

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

DELIMITACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPECIES DE ÁCAROS

GALUMNIDAE (ACARI: ORIBATEI) DEL CENTRO DE MÉXICO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. LUIS FERNANDO VILLAGOMEZ LAZO DE LA VEGA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JOSÉ GUADALUPE PALACIOS VARGAS FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DR. ATILANO CONTRERAS RAMOS INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM. DR. HUGO HARLAN MEJÍA MADRID FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

MÉXICO, D.F.AGOSTO, 2015



Universidad Nacional Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. FACULTAD DE CIENCIAS SISTEMÁTICA

DELIMITACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPECIES DE ÁCAROS

GALUMNIDAE (ACARI: ORIBATEI) DEL CENTRO DE MÉXICO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BIÓL. LUIS FERNANDO VILLAGOMEZ LAZO DE LA VEGA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JOSÉ GUADALUPE PALACIOS VARGAS FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DR. ATILANO CONTRERAS RAMOS INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM. DR. HUGO HARLAN MEJÍA MADRID FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

MÉXICO, D.F.AGOSTO, 2015



POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS FACULTAD DE CIENCIAS DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/397/15

ASUNTO: Oficio de Jurado

VNIVERHDAD NACIONAL AVENIMA EE MEXICO

> Dr. Isidro Ávila Martínez Director General de Administración Escolar, UNAM P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 1 de junio de 2015 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS en el campo de conocimiento de Sistemática del (la) alumno (a) VILLAGOMEZ LAZO DE LA VEGA LUIS FERNANDO con número de cuenta 304192250 con la tesis titulada "Delimitación morfológica y molecular de especies de ácaros Galumnidae (Acari: Oribatei) del centro de México", realizada bajo la dirección del (la) DR. JOSÉ GUADALUPE PALACIOS VARGAS:

Presidente:	DR. GERARDO RIVAS LECHUGA		
Vocal:	DR. ALEJANDRO FRANCISCO OCEGUERA FIGUEROA		
Secretario:	DR. ATILANO CONTRERAS RAMOS		
Suplente:	DRA. MARÍA DEL CARMEN GUZMÁN CORNEJO		
Suplente:	DR. HUGO HARLAN MEJÍA MADRID		

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E "POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU" Cd. Universitaria. D.F., a 18 de junio de 2015

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMÉNDI ARRIAGA COORDINADORA DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS:

Al posgrado en Ciencias Biológicas por haberme permitido cursar mis estudios de posgrado en la Facultad de Ciencias de la UNAM. Por brindar en todos los académicos el compromiso de enseñar y mejorar la enseñanza en México, por todas las facilidades que brinda y por la calidad humana de todas las personas que conocí en este viaje.

Al CONACYT por la beca otorgada durante los dos años en que cursé mis estudios de maestría, al PAPIIT por el apoyo económico por parte del proyecto PAPIIT IA 202713-2, DGAPA, UNAM. A cargo del Dr. Hugo Harlan Mejía Madrid.

A todos los miembros del comité tutor.

Al Dr. José Guadalupe Palacios Vargas, quien me ha brindado su ayuda profesional de manera humanitaria durante todos estos años, además de brindarme un sinfín de conocimientos y otorgar la facilidad de trabajar en su laboratorio durante estos últimos 5 años.

Al Dr. Atilano Contreras Ramos, quien me apoyó durante el transcurso de mis estudios de posgrado, brindándome muchas facilidades de vinculación para realizar parte de mi investigación en el Instituto de Biología de la UNAM. Además, por tener la esperanza y visión de mejorar la ciencia que se hace en nuestro país y alentar a todos sus alumnos en ello.

Al Dr. Hugo Harlan Mejía Madrid por sus comentarios atinados en la revisión del manuscrito, por la financiación recibida para el desarrollo de esta investigación y por todas las facilidades que en este tiempo me ha otorgado.

DEDICATORIA:

A mi familia por todo el apoyo brindado, desde mis primeras etapas escolares hasta la fecha. Por ser un pilar de apoyo y confianza en mi vida, por todo el conocimiento que he adquirido de ellos, por todas las aventuras que hemos pasado juntos y por todas las que nos faltan aún. Gracias.

A mi madre Rosa Elena Lazo Rodríguez, quien ha sido la ficha clave en toda mi formación profesional y hasta personal, a quien he intentado copiar gran parte de sus valores y su filosofía de vida; a quién además de deberle la vida, le debo otras dos vidas más por todo el apoyo incondicional que me ha dado todos estos años.

A mi hermano Iván, que sé muy bien que estará en el momento que lo necesite, con quien he pasado buenos momentos, viajes y aventuras, quien me ha hecho probar sus alucinaciones gastronómicas, a veces con buenos resultados. Ojalá sea feliz siempre.

A mi novia Andy Dorey, que me ha enseñado un sinfín de cosas, con quien he aprendido a valorar muchas cosas de la vida y disfrutar todo al máximo, a planear un camino juntos y mejorar las cosas que nos tocaron. Sigamos disfrutando de este viaje maravilloso.

A todos mis amigos que han estado a mi lado desde hace muchos años: Eduardo Serrano quien se convertirá en un científico de gran renombre en algunos años, a Juan Carlos Tolama que aunque lejos e indispuesto siempre está presente en todas las pláticas y reuniones, a Diego y Rubén Vázquez con quienes pasé una buena infancia y seguimos en contacto hablando de cualquier cosa de forma amena, a Luis Hernández, Diana Cervantes y Moisés Dina por su amistad durante toda la licenciatura y lo que falte, a Aarón Girón y Jorge Arrazola por todos los momentos agradables y competitivos que hemos tenido, aunque siempre pierdan en todo.

A todos los que se me pasen y me reclamen tiempo después.... No los olvido, pero tengo prisa de titularme y no puedo poner todos los nombres en 20 minutos. Una disculpa.

i. Nota Nomenclatural Aclaratoria

- ii. Carta de aceptación de publicación, Revista Mexicana de Biodiversidad
- iii. Artículo "A new species of Pilogalumna (Acari: Oribatida: Galumnidae) from Mexico"

Título1
Resumen1
Abstract1
Introducción2
Antecedentes
Objetivos11
Metodología11
Resultados23
Taxonomía23
Sistemática molecular56
Conclusión73
Referencias76
Apéndices

INDICE

NOTA NOMENCLATURAL ACLARATORIA

Con base en los criterios establecidos en el Código Internacional de Nomenclatura Biológica, en el capítulo 3, De los criterios de publicación, y el artículo 8.3 y el artículo 11 del capítulo 4, se hace una negación manifiesta en la presente obra para que todas las especies que aquí se describen (*Pergalumna obsidiana* sp. nov., *P. granulosa* sp. nov., *P. dactilaris* sp. nov. y *Taeniogalumna tuxtlaensis* sp. nov) no sean consideradas como nombres válidos ni disponibles.

CARTA DE ACEPTACIÓN DE PUBLICACIÓN, REVISTA MEXICANA DE BIODIVERSIDAD



Revista Mexicana de Biodiversidad

Universidad Nacional Autónoma de México

Luis Fernando Villagómez Lazo de la Vega Facultad de Ciencias, UNAM

Cd. Universitaria, a 06 de abril de 2015.

Estimado Dr. Villagómez:

Después de revisar la versión corregida de su trabajo RMB-1763: "A new species of Pilogalumna (Acari: Oribatida: Galumnidae) from Mexico", le informo que ha sido aceptado para su publicación en nuestra revista y aparecerá en el próximo número disponible.

Con el fin de garantizar la adecuada reproducción de las figuras en la impresión final, es necesario que envíe las figuras en formato Tiff, a 300 dpi, a nuestra ed. Técnica, la maestra Ma. Antonieta Arizmendi Espinosa (aarizmen@ib.unam.mx).

En cuanto tengamos listas las pruebas de galeras se las haremos llegar para una última revisión. Le reitero nuestra invitación a enviar fotografías relacionadas con su trabajo para la selección de imágenes que aparecerán en la portada correspondiente.

Sin más por el momento, reciba saludos cordiales

Atentamente,

femando alvanez

Dr. Fernando Álvarez Editor responsable

ARTÍCULO "A NEW SPECIES OF PILOGALUMNA (ACARI: ORIBATIDA: GALUMNIDAE) FROM MEXICO"

A new *Pilogalumna* (Acari: Oribatida: Galumnidae) from Mexico Una nueva *Pilogalumna* (Acari: Oribatida: Galumnidae) de México

Fernando Villagomez* and José G. Palacios-Vargas

Laboratorio de Ecología y Sistemática de Microartrópodos, Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, 04510 México, D. F., México.

* lfvillagomez@gmail.com

Abstract. A new species of *Pilogalumna* from the Ecological Reserve Pedregal de San Angel, Mexico City, is described from adult specimens of both sexes, being the eighth Galumnidae species recorded from Mexico. *Pilogalumna rosauraruizae* sp. nov. is characterized by a combination of lamellar setae longer than other prodorsal setae, sensillum lanceolated with capitulum slighty barbulated, postanal porose area present, lack of pseudolamellae and 20 setae on first tarsus. Additionally, its 18S rRNA partial sequence is reported and a key for identification of species of the world of this genus is provided.

Keywords: Taxonomy, morphology, taxonomic key, 18S rRNA.

Resumen. Se describe una nueva especie de *Pilogalumna* de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, Distrito Federal, México, a partir de ejemplares adultos de ambos sexos, siendo la octava especie de Galumnidae registrada par México. *Pilogalumna rosauraruizae* sp. nov. se caracteriza por la combinación de la seda lamelar más larga que las demás sedas prodorsales, sensilo lanceolado con capítulo ligeramente barbulado, área porosa postanal presente, ausencia de pseudolamela y 20 sedas en el primer tarso. Adicionalmente, se reporta la secuencia parcial 18S rRNA y se proporciona una clave de identificación para las especies del género en el mundo.

Palabras Clave: Taxonomía, morfología, clave taxonómica, 18S rRNA.

Introduction

Galumnidae (Jacot, 1925) includes 34 genera, 9 subgenera, 470 species, and 33 subspecies around the world (Subías, 2014). Nevertheless, only seven species in six genera have been cited from Mexico (Palacios-Vargas and Iglesias, 2004), from which only two (Wharton, 1938; Villagomez and Palacios-Vargas, 2013) were described from Mexican specimens. *Pilogalumna* was erected by Grandjean (1956), with the type species *P. ornatula*. Currently this genus comprises 11 valid species and six subspecies (Subías, 2014); however an updated taxonomic revision is needed.

Most detailed descriptions were done by Engelbrecht (1972a; 1972b) for *P. bloemfonteinensis*, *P. kimberleyensis* and *P. variabilis* from South Africa. Nevin (1975) described *P. cozadensis* from the United States of America and made a simple analysis that suggest *P. binadalares* is a valid species, and gave measurements for several members of the genus. Finally Liu and Wu (2013) described *P. minima* from China including legs chaetotaxy.

Subías (2014) reported *Pilogalumna ornatula ornatula* Grandjean, 1956 from the Mediterranean region and also from México. In the original description (Grandjean, 1956) it is mentioned that this species is distributed only in France and Spain. All the synomyms of this species (i. e., *Galumna adareata* Mihelčič, 1957, *Galumna decipiens* Mihelčič, 1956, *Allogalumna molensis* Mihelčič, 1957 and *Allogalumna pterata* Mihelčič, 1957) have been reported from Spain, mainly Madrid, Cercedilla and Los Molinos (Mihelčič, 1956; Mihelčič, 1957). Later, Vázquez and Prieto (2001) reported *Pilogalumna ornatula* from Quintana Roo, Mexico for the first time.

In this work we describe the eighth new species of winged mites from Mexico based on adult males and females. This contribution is the first one to include the morphological description of a Galumnidae Oribatid mite along with its 18S rRNA sequence. This molecular marker has proven to be a good species identifier of mites along with CO1 and has shown to resolve adequately the phylogenetic relationships of this group (Dabert et al., 2010); A taxonomic key for all species of the genus is also provided.

Materials and methods

During the study of temporal variation of community structure of soil microarthropods associated to *Pittocaulon* (*Senecio*) *praecox* in El Pedregal de San Ángel Ecological Reserve, South of Mexico City (Razo-González et al., 2014), 61 specimens of a new species of *Pilogalumna* (Oribatei: Galumnidae) were found.

Biological material: Mites were extracted from soil samples using Berlese-Tullgren funnels and preserved in ethanol 75%. Then they were mounted under slides in Hoyer's solution. Observations and measurements were undertaken with a phase contrast Carl Zeiss microscope Axiostar plus and a drawing tube adapted to the microscope. In the description, all measurements are in micrometers (μ m) and indicated in brackets after each morphological character. Cheatotaxy follows Engelbrecht (1972) except for the adalar porose areas which are named *Aa1* and *Aa2*, instead of *Aai* y *Aae*. Figures were edited in Photoshop CS5.

Extraction, amplification and sequencing: Eight specimens were fixed in ethanol 96% and stored at -20°C. DNA was able to be extracted only from a single specimen based on a commercial kit using enzymatic methods and precipitation (MasterPure[™] Complete DNA and RNA Purification Kit, Illumina Inc., Madison, Wisconsin, USA). DNA was amplified with VENTR[™] DNA polymerase, New England, Biolabs and following the protocols suggested by Dabert et al. (2010), with some modifications: 6 μ L of Red Taq Ready Mix, 2 μ L of the forward primer Fw1230 (5' μL TGAAACTTAAAGGAATTGACG 3´), 2 of primer (5[′] the reverse Rev18S TGATCCTTCCGCAGGTTCACCT 3') with 2 μ L of the purified DNA sample were used. Final extracts were 25 μ L with a total DNA concentration of \geq 100 ng per 25 μ L.

PCR cycling parameters included 35 cycles of denaturation at 94^oC for 45 s, annealing at 54^oC for 45 s and extension at 72^oC for 90 s. Sequencing reactions were performed with BigDye Terminator v. 3.1 reagents (Invitrogen Technologies, Accesolab, Mexico City, Mexico). The final product was sequenced with an Applied Biosystems[®] 3500xL Dx Genetic Analyzer (Life Technologies[™] Foster City, CA, USA) at the Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. The sequences were edited using BioEdit v7.2.5. software.

Description

Pilogalumna Grandjean, 1956

Type species: Pilogalumna ornatula Grandjean, 1956

Diagnosis: Prodorsal lines *L* and *S* lacking; with true porose areas; 10 pairs of notogastral setae, that might be reduced to alveoli; dorsosejugal suture interrumped, setae *ta* and marginal p_{1-} always present; pteromophs never foveolate, with a notch and setae *ta* usually well developed; lamellar setae between lines *L*; notogaster rounded, never foveolate; adanal lyrifissures adjacent to genital plate margins; tridactylus legs (Balogh, 1958, Balogh and Balogh, 1992).

Key for the species of *Pilogalumna* (Males and females).

1a. Sensillar capitulum lanceolate, apex acuminate; vertex pointed2							
1b. Sensillar capitulum flattened, apex truncate; vertex square							
P. binadalares (Jacot, 1929) (U.S.A)							
2a. Prodorsum with pseudollamela, postanal porose area almost threfold size of anal plates							
P. ornatula Grandjean, 1956 (Spain, France and Mexico)							
2b. Prodorsum without pseudollamela, postanal porose area of normal size or absent							
3a. Vertex elongated and sharp, setae <i>in</i> diminute, hardly visible4							
3b. Vertex not elongated, setae <i>in</i> always well discernible6							
4a. Prodorsum rounded, with a line or a transversal fold between setae <i>la</i> and <i>ro</i> , sensillum							
barbulatedP. steinmanni Aoki, 1975 (Korea)							
4b. Prodorsum triangular, without transversal fold between setae <i>la</i> and <i>ro</i> , sensillum							
smooth5							
5a. Lamelar seta subequeal to rostral setae, body length more than 550							
μ <i>P. tenuiclava</i> Berlese, 1908 (Italia)							
5b. Lamelar seta shorter than rostral setae, body length less than 410 μ							
P. minima Liu and Wu, 213 (China)							
6a. Interlamelar setae shorter than lamellar setae7							
6b. Interlamelar setae subequal or longer than lamellar setae8							
7a. Seta <i>ti</i> reduced to one alveolus, lyrifissure <i>iad</i> posterior to setae <i>ad3</i> , tarsus I with 19 setae							
P. cozadensis Nevin, 1975 (U.S.A.)							

7b. Seta ti always present, lyrifissure iad anterior to ad3, tarsus I with 20 8a. Interlamelar setae subequal to lamellar setae9 8b. Interlamelar setae longer than lamellar setae......10 9a. Porose area A2 short and smaller than que A3, body length more than 700μ 9b. Porose area A2 elongated, similar to A3 in shape and size, body length less than 550μP. crassiclava (Berlese, 1914) (Italia) 10a. Sensillum smooth, notogastric setae short (< 30 μm).....11 10b. Sensillum barbulated, notogastric setae long (> 40 µm).....P. bloemfonteinensis Engelbrecht, 1972 (Southafrica, ¿U.S.A?) 11a. Sensillum very elongated and thin, rostal setae subequal to lamellar setaeP. kimberleyensis Engelbrecht, 1972 (South Africa) 11b. Sensillum not elongated and thick, rostral setae shorter than lamellar setae

Pilogalumna rosauraruizae sp. nov. (Figs. 1 – 14).

Description of adult. (N=10) Length 650 (621-709), width 483 (453-512). Color from dark brown to reddish brown.

Sensillum clavate, with capitulum barbulated. Cuticular ornamentation slighly punctate on prodorsum, notogaster and ventral plate. All prodorsal setae present and slightly barbulate, interllamelar setae short and erected; all notogastral porose area present, *Aa* duplicate; 10 pairs of short notogastric setae; no dorsosejugal suture, no median pore; 6 pairs of genital setae, 2 pairs of anal setae; lyrifissure *iad* close to anal plate; one pair of aggenital and 3 pairs of adanal setae; postanal porose area present; no ornamentation on genital and anal plates; no gastronotic granular belt; either ventral.

Prodorsum (Figs. 1, 3 and 4). Surface slightly punctuated no dorsosejugal suture, lines L and S lacking, dorsosejugal porose area (Ad) (15 x 13) oval and smaller than notogastric porose areas. All prodorsal setae present and slightly barbulate (Fig. 9) interllamelar setae (*in*) short and erected (54), lamelar setae (Ia) longer than others (91), rostral setae (ro) of average size (76) but more curved.

Sensillum (SS) (85) slightly curved (Figs. 1, 3, 4 and 9), stalk thin and the insertion in the shape of "S", capitulum fusiform, thick close to apical region, with barbulations and punctuations. Chelicerae normal (185 length and 69 width) (Fig. 8), setae *cha* (49) longer than *chb* (37), both very barbulated.

Notogaster (Figs. 1 and 4). Integument slightly punctate from middle to posterior region, fine irregular ornamentation between *Aa1* and *A1*; 10 pairs of setae (20, except *ta*) in normal position, no double alveoli, no medial pore; porose areas semicircular (except *A3*), with little variation in form to slightly oval. *Aa* divided in *Aa1* (18x 6) orientated to sagittal line and *Aa2* (15 x 5), between them setae *te*, under it there are setae *ti* and *ms*, and between them the lyrifissure *im*.

Porose area A1 (22 x 12) semicircular, irregular ornamentation between setae ms and r_3 in the posterior margin, A2 oval (15 x 8) posterior to r_3 ; A3 oval (39 x 6) being the biggest and located between setae r_1 and lyrifissure ip, anterior to setae p_1 and p_2 , setae p_3 at the side at level of A2.

Pteromorpha bilobed (325 x 217) (Fig. 6), with three types of ornamentation, slight and superficial at margin, also with some striations, profuse at middle region, with a granular ornamentation in most of the surface except margins; it has a central notch near articulation zone to notogaster; setae *ta* (18) anterior to notch and posterior lyrifissure *ia* directed slightly towards the hinge.

Ventral plate (Fig. 2). Integument finelly punctated, epimeral setae 1b, 3a, 4a and 3b present (17 µm); genital plates smooth (94 length and 103 width), six genital setae (23), two in the anterior margin of each plate and other in a slightly curved row; anal plate smooth (156 length and 131 width), two pairs of anal setae (23); one pair of aggenital setae (21); three pairs of adanal setae subequal in size (20), ad1 and ad2 inserted posterior to anal plate, ad3 in the medial zone, anteriorly lyrifissure *iad*; postanal porose area present, elongated (74 x 9), irregular shape, only visible at postero lateral view in a caudal preparation (Fig. 5).

Lateral region (Fig. 4). Lines *L* and *S* absent, *in* between position of lines *L*, circumpedal line present, thin, posterior to fourth acetabulum, rostrum slightly sharp.

Hypostome (Fig. 7). 165 length and 197 width. One pair of hypostomal setae (h) thin and barbed (20), camerostoma with setae a (32) slightly longer than m (29), or1 and or2 (13) short and barbulated.

Pedipalp (Fig. 10). Setal formula 9-3-1-2. Femur with 2 setae, ventral longest, genua with only setae I', tibia with 3 setae, only v ventral, tarsus with one pair of ventral setae, one pair of lateral setae and the culminal (*cm*), anteroculminal eupatidium (*acm*) fused to solenidum ω .

Legs. All the legs are tridactylous with small punctuation on femora.

Chaetotaxy. (Table 1) Leg I (Fig. 11) setae I' shorter than I' on femur; solenidium σ on genua similar to ω_2 of tarsus; φ_1 on tibia dorsal, about twice the length of φ_2 ; I' of tibia as long as solenidium φ_1 ; fastigial setae ft'' of tarsus short and thin, anterior to ω_1 , ω_2 about half the size of φ_1 ; famulus (ε) very short and blunt tip; setae Ad'' and Ad' Present. Leg II (Fig. 12), setae $I'' \vee I'$ of femur similar in length and shape, slightly barbulate; solenidium σ of genua similar to leg I; tibial φ long; ω_1 and ω_2 of tarsus similar in length and shape, with blunt tips. Leg III (Fig. 13) solenidium σ shorter than those of legs I and II; φ about 3 times as long as σ . Leg IV (Fig. 14). Only one solenidium, φ on tibia, ventral tibial ν' shorter and more barbulate than ν' .

Taxonomic summary

Type locality. Ecological Reserve Pedregal de San Angel, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Distrito Federal, México. 19°19'07.44'' N, 99°11'43.85''W, 2330 m.a.s.l.

Type material. Female holotype deposited as slide, 09/05/2008, México. Distrito Federal. Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, Ciudad Universitaria. E. Catalán y F. Villagomez Coll., (catalog number #1555); 40 more paratypes with same data, of which 10 are deposited as slides (7 females, 3 males) and 30 in ethanol (22 females, 8 males) at 75% (# 1556); 11 specimens as additional material from type locality with collecting data 28/07/2013 (# 1554). This material is deposited at the collection of Laboratorio de Ecología y Sistemática de Microartrópodos (LESM), Facultad de Ciencias, UNAM. Additionally, 5 paratypes (catalog numbers CNAC00 9002 to CNAC00 9006) with same data as others paratypes, are deposited as slide in the Colección Nacional de Ácaros (CNAC), Instituto de Biología, UNAM

Distribution. This species is only known from the type locality.

Etymology. This new species is dedicated to Dr. Rosaura Ruiz Gutiérrez, Director of the Facultad de Ciencias, UNAM, for supporting the development of science in Mexico.

Natural History. The specimens were collected from soil and litter under shrubs and small trees of *Senecio (Pittocaulon) praecox*.

Remarks

Setal and solenidial morphology of legs provide important information for the identification of *Pilogalumna* species as suggested by Nevin (1975) and Engelbrecht (1972). Nevertheless, there is a lack of information for most of the species, as only 5 from 11 valid species (Subías, 2014) have detailed leg chaetotaxy reported (Engelbrecht, 1972a; Engelbrecht, 1972b; Grandjean, 1956; Nevin, 1975; Liu and Wu, 2013). Tarsi I vary from 19 to 20 setae, and tibiae of legs III can present 2 or 3 setae, genua of legs II also have 2 or 3 setae and femora II 3 or 4 setae. This variation in the number of setae on leg articles has been overlooked, but it is important, as in *P. variabilis* Engelbrecht, 1972, that possesses a unique leg chaetotaxy. The morphology of solenidia might be relevant as well. It is a character that has been found to be variable between species and could be used for species discrimination.

Pilogalumna rosauraruizae sp. nov. is very similar to *P. ornatula* but differs in lacking the pordorsal pseudolamela between *la* setae, the position of setae *ti* and lirifisure *im* in the same axis between *Aa2* and *A1*. Presence of postanal porose area elongated as long as ventral plate, but never threefold longer. Finally, *P. rosauraruizae* sp. nov. is smaller, reaching a maximum of 709 in adults, while *P. ornatula* can reach a maximum of 735 in males and 770 in females. The new species differs from *P. binadalares* in the shape of sensillus and vertex. Leg chaetotaxy is also different from *P. variabilis*, *P. cozadensis* and *P. bloemfonteinensis* which have 19 setae on tarsus I, versus 20 setae in *Pilogalumna rosauraruizae* sp. nov.

Acknowledgments. Authors thank Dr. Gabriela Castaño Meneses for donation of the mites (project PAPIIT-IN208508, DGAPA, UNAM). Dr. Hugo H. Mejía-Madrid provided economical and technical support (Project PAPIIT IA 202713-2, DGAPA, UNAM) for the molecular analyses and reviewed the manuscript. To M.Sc. Laura M. Márquez Valdelamar, (Instituto de Biología, UNAM), M.Sc. Andrea R. Jiménez Marín (Instituto de Biología, UNAM) and M.Sc. Fabiola Ramírez (Facultad de Ciencias, UNAM) provided technical assistance on molecular sequencing and amplification techniques. Dr. Roy A. Norton shared important literature for this study. This work is part of a master's degree (M.Sc.) about the species delimitation in Galumnidae Oribatid mites from Mexico, where the relationships between species and genera within the family are being described.

Literature cited

Balogh, J. 1958. Oribatides nouvelles de l'Afrique tropicale. Revue de Zoologie et de Botanique Africaines 58:1-34.

Balogh, J. and P. Balogh. 1992. The oribatid mites genera of the world. Vol 1. Hungarian National Museum Press, Budapest, 263 p.

Dabert, M., W. Witalinski, A. Kazmierski, Z. Olszanowski and J. Dabert. 2010. Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): Strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. Molecular Phylogenetics and Evolution 56: 222-241.

Engelbrecht, C. M. 1972a. *Ctenogalumna moresonensis* sp. n. and *Pilogalumna bloemfonteinensis* sp. n., two new South African spec. of the subfam. Allogalumninae Balogh, 1960 (Galumnidae, Oribatei). Acarologia 14(3): 497-510.

Engelbrecht, C. M. 1972b. Galumnids from South Africa (Galumnidae, Oribatei). Acarologia 14: 109-140.

Grandjean, F. 1956. Galumnidae sans carénes lamellaires (Acariens, Oribates) 1^{re}. série. Bulletin de la Société Zoologique de France 81: 134-150.

Liu, D. and D. Wu. 2013. Oribatid mites from Wanda mountains in China, with description of a new species of the genus *Pilogalumna*. International Journal of Acarology DOI: 10.1080/01647954.2013.809789.

Mihelčič, F. 1956. Oribatiden Süderopas IV. Zoologischer Anzeiger 156: 205-226.

Mihelčič, F. 1957. Oribatiden Süderopas VIII. Zoologischer Anzeiger 159: 101-122.

Nevin, F. R. 1975. *Pilogalumna cozadensis*, a new species of galumnid from Nebraska. U.S.A. Acarologia 18(4): 751-758.

Palacios-Vargas, J. G. and R. Iglesias. 2004. Oribatei (Acari). *In* Biodiversidad, Taxonomía y Biogeografía de Artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento, J. Llorente Bousquets and J. J. Morrone (eds.). Universidad Nacional Autónoma de México. México, Vol. 4: 431-468 p.

Razo-González, M., G. Castaño-Meneses, A. Callejas-Chavero, D. Pérez-Velázquez & J. G. Palacios-Vargas. 2014. Temporal variations of soil arthropods community structure in El Pedregal de San Ángel Ecological Reserve, Mexico City, Mexico. Applied Soil Ecology 83:88-94.

Subías, L. S. 2014. Listado sistemático, sinonímico y biogeográfico de los ácaros oribátidos (Acariformes: Oribatida) del mundo (excepto fósiles). Actualizado en Febrero del 2014. Graellsia 60 (número extraordinario): 3-305 (2004).

Vázquez, G. M. M. and D. Prieto. 2001. Oribatida. *In* Fauna edáfica de las selvas tropicales de Quintana Roo., M. M. Vázquez (ed.). Universidad de Quintana Roo, México, 71-84 p.

Villagomez, F. and J. G. Palacios-Vargas. 2013. A new species of *Trichogalumna* (Acari: Oribatida: Galumnidae) from Mexico. Brenesia 79: 72-80.

Wharton, G. W. 1938. Acarina of Yucatan Caves. Carnegie Institution of Washington, publ. 491:137-152.

Pilogalumna rosauraruizae sp. nov							
Pilogalumna ornatula Grandjean, 1965							
Setal formulae. Fe: 4-4-2-2; Ge: 3-3-1-2; Ti: 4-4-3-3; Ta: 20-15-15-12							
Solenidial formulae. Fe: 0-0-0-0; Ge: 1-1-1-0; Ti: 2-1-1-1; Ta: 2-2-0-0							
Leg I	d, v, (I)	l΄΄, ν, d, σ	(I), (ν), φ1, φ2	(ft), ε, (tc), (it), (p), (u), (a), s, (pv), (Ad), (pl), ω1, ω2			
Leg II	d, v, (l)	l΄′, ν, d, σ	(I), (ν), φ	(ft), (tc), (it), (p), (u), (a), s, (pv), ω1, ω2			
Leg III	d, v	Ι΄, σ	Ι´, (ν), φ	(ft), (tc), (it), (p), (u), (a), s, (pv)			
Leg IV	d, v	(1)	Ι´, (ν), φ	ft´´, (tc), (p), (u), (a), s, (pv)			
Pilogalumna bloemfonteinensis Engelbrecht, 1972							
Pilogalumna cozadensis Nevin, 1975							
	Setal formulae. Fe: 4-4-2-2; Ge: 3-3-1-2; Ti: 4-4-3-3; Ta: 19-15-15-12						
	Solenidial formulae. Fe: 0-0-0-0; Ge: 1-1-1-0; Ti: 2-1-1-1; Ta: 2-2-0-0						
Leg I	Tarsi lacking Ad ^{~~}						
		Pilogalumna	<i>a variabilis</i> Engel	brecht, 1972			
	Setal formulae. Fe: 4-3-2-2; Ge: 3-2-1-2; Ti: 4-4-2-3; Ta: 19-15-15-12						
	Solenidial formulae. Fe: 0-0-0-0; Ge: 1-0-1-0; Ti: 2-1-1-1; Ta: 2-2-0-0						
Leg I	Tarsi lacking Ad''						
Leg II	Femur lacking $I^{\prime\prime}$; genua lacking d and solenidia σ						
Leg III	Tibia lacking v''						



Figures **1-4**. *Pilogalumna rosauraruizae* sp. nov.

1. Notogaster; 2. Ventral plate; 3. Rostrum; 4. Lateral region. Scale bar 100 μm.



Figures **5-10**. *Pilogalumna rosauraruizae* sp. nov.

5. Posterior region; 6. Pteromorpha; 7. Hypostoma; 8. Chelicera; 9. Prodorsal setae; 10. Pedipalp. Scale bar 50 μ m.



Figures **11-12**. *Pilogalumna rosauraruizae* sp. nov.

11. Leg I, paraxial view; 12. Leg II, paraxial view. Scale bar 20 $\mu m.$



Figures **13-14**. *Pilogalumna rosauraruizae* sp. nov.

13. Leg III, paraxial view; 14. Leg IV, paraxial view. Scale bar 20 μ

Delimitación morfológica y molecular de especies de ácaros Galumnidae (Acari: Oribatei) del centro de México

Luis Fernando Villagomez Lazo de la Vega

Ecología y Sistemática de Microartrópodos, Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 04510 México, D. F. E-mail: lfvillagomez@gmail.com

Resumen

Se llevó a cabo la descripción de cinco nuevas especies de los géneros *Pergalumna*, Pilogalumna y Taeniogalumna pertenecientes a la familia Galumnidae de México. Utilizando técnicas de extracción y amplificación de ADN para la región ribosomal 18S rRNA y para la región del marcador Citocromo oxidasa c 1 (COI) del ADN mitocondrial, con el objeto de realizar una caracterización molecular de las especies y poder delimitarlas. evaluando también la relación entre la distancia genética y las características morfológicas. Se observó la distancia genética entre individuos de la misma especie y diferentes localidades con el marcador molecular COI para tres de las especies descritas de Galumnidae, encontrando que la distancia varía con relación a las especies analizadas, siendo de 0.3%, 2.46% e incluso de 6.02%. Se incluyeron 50 individuos de diferentes géneros y familias para la realización de análisis bayesianos y de máxima verosimilitud con dos modelos de sustitución (GTR+G+I y HKY), con el objetivo de observar si las relaciones filogenéticas apoyaban las delimitaciones morfológicas. Se encontró que en la mayoría de los análisis realizados por los diferentes métodos filogenéticos, las secuencias eran agrupadas en las especies morfológicas aquí descritas, con altos valores de soporte de ramas (Bootstrap y probabilidades posteriores), excepto la secuencia M515 que debido a su disparidad genética en todos los métodos de delimitación generados (bPTP y GMYC) era tratada como una especie diferente. Finalmente, mediante CAOS fue generado un análisis de caracteres moleculares diagnósticos, para observar cuantas sinapomorfías y simplesiomorfías presentaban cada uno delos grupos internos, con el objeto de proveer un mayor sustento a las delimitaciones morfológicas.

Palabras clave. Taxonomia, Galumnidae, México, Molecular, COI, Delimitación de especies

Abstract.

The descriptions of five new species belonging to the genera *Perglaumna*, *Pilogalumna* y *Taeniogalumna* from family Galumnidae from Mexico were done. Additionally techniques of extraction and amplification of ribosomal 18S rRNA and mitochondrial Cytochrome Oxydase c 1 (COI) were used in order to perform a molecular characterization of these species and to delimit, also evaluating the relationship between genetic distance and

morphologic characters. The genetic distance between individuals of the same species and different localities with molecular marker COI was observed in three species of Galumnidae. Finding that the distances varies in relation to the species analized, being from 0.3, 2.46 or 6.02%. 50 individuals from different genera and families to perform bayesian and maximum likelihood analysis with two replacement models (GTR+G+I and HKY) were included, in order to see if the phylogenetic relationships supported the morphological boundaries generated in this work. It was found that in most of the analyses performed by the different phylogenetics methods, sequences were grouped into the morphological species described here, with high levels of branch support (Bootstrap and posterior probabilities), except the M515 sequence because of their disparity genetics in all methods of delimitation generated (bPTP and GMYC) was threated as a different species. Finally in CHAOS was generated an analysis of molecular diagnostic characters, to observe how many sinapomorphies and symplesiomorphies presented each of internal groups, in order to provide further support to the morphological boundaries.

Key words. Taxonomy, Galumnidae, Mexico, Molecular, COI, Species delimitation

Introducción

Los microatrópodos son una parte fundamental de la mesofauna que interviene en el establecimiento de los ecosistemas del suelo, debido a que muchos de ellos son organismos pioneros, que inciden en la base de la sucesión ecológica; contribuyendo en varios niveles en el proceso de descomposición de la materia vegetal, por lo que se les suele considerar como descomponedores primarios y secundarios (Ojeda, 1989). Además, al preferir ambientes con un alto contenido de materia orgánica, pueden ser usados como bioindicadores de buena calidad de suelo (Banerjee y Sanyal, 1991).

Uno de los grupos más diversos y abundantes de microartrópodos son los ácaros, que se caracterizan por tener un cuerpo dividido en gnatosoma, portador de las piezas bucales, y un idiosoma, en el que se ubican los apéndices locomotores, sistemas y órganos vitales; aunque de acuerdo con el grupo pueden presentar regionalización corporal secundaria. Poseen quelíceros quelados, pedipalpos y cuatro pares de patas en su estado adulto (tres cuando son larvas), respiración traqueal o cuticular y diversas estructuras de mecanorrecepción, quimiorrecepción y fotorrecepción (Krantz y Walter, 2009), además estructuras especializadas para la secreción de sustancias y muchas otras que aún se desconoce o no se comprende totalmente su función (Norton & Alberti, 1997).

De acuerdo con la clasificación de Krantz y Walter (2009), los ácaros se ubican dentro de la Clase Arachnida y la Subclase Acarina (= Acari). Con base en sus diferentes características morfológicas, se reconocen dos Superórdenes:

Dentro del superorden Parasitiformes se encuentran los órdenes Opilioacarida (Notostigmata), Holothyrida (Tetrastigmata), Gamasida (Mesostigmata) e Ixodida (Metastigmata) (Krantz y Walter, 2009), mientras que en el superorden Acariformes se encuentran tan sólo dos órdenes, Trombidiformes y Sarcoptiformes.

El Orden Sarcoptiformes comprende los subórdenes Endeostigmata y Oribatida o Cryptostigmata (Krantz y Walter, 2009).

Los oribátidos (Cryptostigmata) se desplazan por movimientos lentos, debido a que generalmente presentan fuerte esclerosamiento cuando son adultos, que propicia una amplia gama de tonalidades que se pueden presentar en la parte dorsal como ventral (Ojeda, 1989), exhiben una gran variedad de modificaciones cuticulares a manera de ornamentaciones cerotegumentarias, mismas que poseen un alto valor taxonómico. Ocasionalmente presentan fusionadas las placas dorsales formando el notogáster, que promueve la protección del idiosoma.



Figura 1. Partes principales de los ácaros oribátidos y su sistema traqueal (Modificado de Pérez-Íñigo, 1993; Krantz y Walter, 2009). Abreviaturas. Q=Quelíceros; Pp= Pedipalpos; Hy= Hypostoma; Pg= Placa genital; Pa= Placa anal; I, II, III y IV refieren a las coxas de cada par de patas.

El nombre Cryptostigmata (estigmas ocultos), deriva de la posición de los estigmas o aperturas respiratorias, ya que se abren en las cavidades acetabulares de las tres primeras coxas, comunicándose con las tráqueas (Fig.1).Una peculiaridad del grupo es la posesión de las tráqueas I y II birrameas, mientras que en la coxa de la pata III son simples (Krantz y Walter, 2009).

Son organismos ovovivíparos, que poseen un ciclo de vida generalmente con siete instares: huevo, prelarva, larva, protoninfa, deutoninfa, tritoninfa y adulto. Su cuerpo en estos estadios se encuentra cubierto por una cutícula de capacidad elástica, de aspecto rugoso. Generalmente no existe dimorfismo sexual, diferenciándose (si es que existe) principalmente por la talla corporal o bien en el tamaño de las placas genitales (Krantz y Walter, 2009), algunos machos se pueden diferenciar por la posesión de prolongaciones en la parte posterior del notogáster, crestas esclerosadas en el prodorso, áreas porosas más desarrolladas o simplemente por modificaciones en la ornamentación (Balogh y Balogh, 1992). La fertilización es interna y se realiza por medio de paquetes espermáticos o espermatóforos. Muchas de las especies de este grupo son partenogenéticas.

Los oribátidos se distribuyen por todo el mundo, desde hábitats acuáticos, hasta los más diversos medios terrestres, sobre plantas epífitas, musgos, líquenes, hojarasca y humus, además de habitar en muy diversos tipos de suelo (Palacios-Vargas e Iglesias, 2004). La riqueza específica y la densidad de estos organismos puede variar de acuerdo al substrato, siendo generalmente en el suelo, hojarasca y humus en los que sus poblaciones pueden alcanzar los mayores números (Covarrubias, 2008; Krantz y Walter, 2009).

Gran parte de la sistemática actual se encuentra basada en los trabajos de Grandjean (1953, 1969), quien divide a los ácaros en seis grupos mayores. Los primeros cinco formando a los ácaros primitivos y el último a los ácaros superiores.

Dentro de los primitivos encontramos a Palaeosomata, Enarthronota, Parhypochthonoidea, Mixonomata y Nothroidea. Mientras que de los ácaros superiores conocidos como Circumdehiscentiae (debido a la dehiscencia circumgástrica), se dividenen cinco grupos con base en la conservación de las exuvias en el dorso, la cantidad de sedas notogástricas y la presencia de áreas porosas (Grandjean, 1953).

En el grupo de los ácaros superiores, se encuentran los Opsioferedermos (ninfa semejante a los adultos, sin coberturas exuviales dorsales), Euferedermos (con coberturas exuviales dorsales), Aferedermos dorsodeficientes (sin coberturas exuviales dorsales y ninfas con pérdida de al menos cuatro pares de sedas dorsales), Aferedermos picnonóticos (sin coberturas exuviales dorsales y ninfas con pérdida de máximo dos pares de sedas dorsales) y finalmente a los Poronota (con presencia de áreas porosas notogástricas) (Grandjean, 1953).

Las clasificaciones filogenéticas en ácaros se han propuesto tradicionalmente con base en caracteres morfológicos; sin embargo, actualmente con el desarrollo de técnicas moleculares, se han postulado que muchos de estos grupos establecidos no son naturales, pudiendo tener un origen parafilético e incluso polifilético. Estos resultados son generados por el uso de caracteres homoplásicos en las clasificaciones y no a verdaderas

sinapomorfías que reflejen una historia natural, provocando interpretaciones y arreglos taxonómicos artificiales.

Un ejemplo de esto lo proporcionan Schäffer *et al.* (2010), quienes con tres marcadores nucleares hipotetizan un origen parafilético o incluso polifilético de los ácaros Circumdehiscentiae, evidenciando el uso de caracteres convergentes para esta agrupación artificial, dentro de los cuales se encuentra Poronota.

Es posible sustentar la monofilia de los clados por medio de este tipo de técnicas moleculares, generando evidencia extra que apoye a las cuestiones morfológicas, o bien con el uso de ambos datos fusionados en un análisis de evidencia total. Dabert *et al.* (2010) usando una secuencia de ADN mitocondrial (COI) y otra de ADN ribosomal (18S rRNA) apoyan la monofilia de los Acariformes, reconociendo dos órdenes: Sarcoptiformes (Endeostigmata, Oribatida + Astigmata) y Trombidiformes.

Mediante análisis moleculares, también se ha podido analizar la parafilia de clados menos inclusivos, por ejemplo, Schäffer *et al.* (2010) con el uso de datos morfológicos y moleculares fue capaz de inferir una relación parafilética e incluso polifiléticadel género *Scutovertex*, usando únicamente diez especies para dicho análisis. El mismo autor menciona la posibilidad de separar especies crípticas, en base adistancias genéticas tanto mitocondriales como nucleares, corroboradas mediante caracteres morfológicos (Schäffer, *et al.* 2010). Sin embargo, se ha visto que algunos ácaros oribátidos con polimorfismo fenético, pueden tener una distancia genética muy pequeña, y por tanto no siempre ayuda al discernimiento entre especies (Avanzati *et al.* 1994).

Salomone *et al.* (1996, 2002) y Salomone y Bernini (2004) han clasificado a los estegnacáridos (Oribatei: Stegnacaridae) de las Islas Canarias mediante el análisis de secuencias de ADN mitocondrial, en particular del marcador Citocromo oxidasa c 1 (COI) y 16S rRNA. Mientras que Lee *et al.* (2006), Maraun *et al.* (2004) y Dobson y Barker, (1999) han usado los genes ribosomales 18S rRNA y 28S rRNA para la obtención de inferencias filogenéticas de grupos superiores. Probando la eficacia de los marcadores moleculares como herramienta complementaria al análisis morfológico, siendo muy útil en los análisis filogenéticos a todos los niveles jerárquicos y una prueba adicional para la delimitación de especies.

Ningún marcador molecular tiene un funcionamiento óptimo a todos los niveles jerárquicos, de tal forma, marcadores muy estables (18S rRNA, 28S rRNA) funcionan para dilucidar las relaciones de grupos por encima del nivel específico, siendo ideales a nivel de órdenes, familias o incluso géneros, mientras que marcadores variables funcionan para diferenciar especies e incluso poblaciones e individuos (COI, ITS).

La sistemática molecular puede apoyar mediante la distancia genética, a la separación de especies polimórficas (Hendrixson *et al.* 2013), especies del mismo género (Gao *et al.* 2012), y también a la unificación de varios morfotipos en una sola especie, como se ha visto con los colémbolos del género *Yuukianura* (Palacios-Vargas *et al.* comm. per.). Sin embargo son pocos los grupos de oribátidos que disponen información adecuada para generar dichas hipótesis y previo a esto se debe tomar en cuenta el concepto de especie con el que se pretende identificar.

Por especie podemos entender un rango jerárquico dentro de la clasificación lineana, definido como el nivel más básico de agrupamiento biológico (sin tomar en cuenta subespecies, variedades, formas, etc.), o bien, un grupo de individuos congregados en poblaciones con una historia evolutiva propia y que tienen la capacidad de evolucionar.

En el siglo XIV se generó una corriente nominalista que indicaba que lo único que existían eran individuos y no conjuntos, por lo tanto todo los conjuntos (en este caso especies) que nosotros quisiéramos generar serían por tanto artefactos y abstracciones humanas. Posteriormente con las ideas de Linneo y la introducción de la idea de evolución biológica por parte de Darwin, las especies comenzaron a poseer una existencia biológica real y por tanto caracteres propios y estables que facilitaban la identificación de las mismas, sin embargo con las diferentes ramas de la biología y las necesidades de cada una de ellas por definir lo que es una especie, se comenzaron a generar una gran cantidad de estos conceptos. Mayden (1977) genera una recopilación de 22 conceptos de especie, cada uno caracterizado por una propiedad fundamental, entre estos se encuentran el concepto biológico, ecológico, genético, filogenético y morfológico.

Un año más tarde de Queiroz (1998) comienza con la idea de unificación del concepto de especie y la continúa desarrollando hasta la clarificación de las diferencias entre el concepto de especie y los conceptos de delimitación de especies. De esta forma, basándose en una característica primaria común entre todos los conceptos existentes, la cual nombra como linaje, (bajo el supuesto de ser una metapoblación o segmento de un linaje que a su vez comprende una serie de ancestría-descendencia y se extiende a través del tiempo) genera su concepto unificador de especie, el cual dice que todas las especies deben cumplir con esta característica primaria de linaje, y que todos los demás conceptos pueden ser usados como características secundarias o líneas de evidencia para la separación de especies (de Queiroz, 2007).

En el presente trabajo se toma en cuenta el concepto unificador de especies, y los diferentes criterios morfológicos y moleculares se usan como criterios secundarios para el reconocimiento de los linajes evolutivamente independientes. Se considera a las especies como hipótesis que pueden ser validadas o no, por uno o más diferentes criterios secundarios o líneas de evidencia (de Queiroz, 2007).

Actualmente existen muchas metodologías para la delimitación de especies en base marcadores moleculares, siendo algunas de las más populares el DNA barcoding GAP, GMYC, bPTP, Genealogical Exclusivity, Structurama, BPP y spedeSTEM (Ence y Carstens, 2010; Yang y Rannala, 2010; Hendrixson et al. 2013; Carstens et al. 2013), sin embargo ningún método por sí mismo asegura una correcta delimitación y muchos métodos ofrecen resultados incompatibles, se ha propuesto realizar una amplia gama de análisis por diferentes metodologías y analizar los resultados que sean congruentes entre sí (Carstens et al. 2013), sin embargo, un mayor número de análisis también incrementa el error en términos de incompatibilidad.

Ubicación sistemática.

La superfamilia Galumnoidea Jacot, 1925, pertenece a la cohorte Brachypilina (con placas genitales y anales pequeñas y separadas entre ellas), dentro de la supercohorte Desmonomatides, estos organismos no suelen ser tan abundantes como otros oribátidos; sin embargo, suelen estar presentes en una gran cantidad de ambientes, desde suelo, hojarasca, musgos, líquenes, madera en descomposición, hasta el dosel de las selvas.

Se caracterizan por un aspecto semiesférico y un alto grado de esclerosamiento, también suelen estar fuertemente pigmentados. Poseen un histerosoma mayor que el proterosoma. Con presencia de pteromorfos de tamaño grande, con prolongación anteroposterior, misma que en su extremo llega casi al borde del rostro.

Los pteromorfos son estructuras muy particulares que reciben su nombre por el parecido que pueden llegar a tener con las alas de otros organismos, son prolongaciones cuticulares que se encuentran localizados en los bordes antero laterales del notogáster, en esta superfamilia estas estructuras están articuladas por medio de una charnela, que es una zona de bajo esclerosamiento, confiriéndole cierto grado de flexibilidad hacia la región ventral, permitiendo la protección de la región podosómica (Pérez-Iñigo, 1993).

Tradicionalmente la superfamilia Galumnoidea se agrupaba en tres familias, Parakalummidae, Galumnidae y Galumnellidae (Jacot, 1925); según Krantz y Walter (2009), la superfamilia se compone únicamente de dos familias, Galumnidae y Galumnellidae (Fig. 2), mismas que se separan por la posesión de un tectum subcapitular (mentum) largo en adultos, la anatomía queliceral y escleritos opistonotales en inmaduros. La familia Parakalummidae se integra en Oripodoidea por poseer similitudes de quetotaxia, forma de los escleritos preanales y la presencia de áreas porosas de las patas (Lee, 1991).



Figura 2. Posición taxonómica de la familia Galumnidae dentro de la superfamilia Galumnoidea (Según Krantz y Walter, 2009)

Antecedentes

Actualmente con el desarrollo de técnicas moleculares eficientes, se ha comenzado a utilizar las secuencias genéticas para generar hipótesis filogenéticas, discernir entre especies crípticas e incluso sugerir arreglos artificiales en la sistemática actual del grupo.

Dentro de la superfamilia Galumnoidea, sólo la familia Galumnidae cuenta con algunos datos genéticos aislados, mientras que de Galumnellidae, no se tiene ningún registro en estos términos, además de ser considerados organismos escasos tanto en riqueza específica como en abundancia. No se han encontrado registros de esta familia para nuestro país.

Maraun *et al.* (2004) dentro de su trabajo de filogenia de los ácaros oribátidos, generan la primer secuencia genética para los galumnidos, siendo secuenciado el fragmento 28S rRNA de la especie *Galumna lanceata* (Oudemans, 1900). Cinco años más tarde, Maraun *et al.* (2009) generan la secuencia del marcador molecular 18S rRNA para la misma especie, con la intención de investigar la evolución de la vida arbórea en los oribátidos.

Para la reconstrucción filogenética de los ácaros superiores, Schäffer *et al.* (2010) utiliza 16 especies de ácaros Poronota, de los cuales uno pertenece a la familia Galumnidae, siendo *Galumna cf. obvia* (Berlese, 1914). En el mismo año Dabert *et al.* (2010) mediante el marcador de citocromo oxidasa c I (COI) y 18S rRNA logran observar cierta diferenciación genética entre los géneros *Pergalumna* y *Acrogalumna*. Young *et al.* (2012) mencionan que típicamente las secuencias entre individuos de la misma especie para el marcador COI

varían únicamente en fracciones del uno por ciento, mientras que las diferencias interespecíficas suelen ser mayores al dos por ciento. En el mismo trabajo se proporcionan las secuencias del marcador COI para varios ejemplares de la familia Galumnidae no identificados a nivel específico.

Hasta el momento únicamente se tienen nueve secuencias de ácaros Galumnoideos identificados al menos a nivel genérico, siendo tres de COI, dos de la subunidad 28S rRNA, dos de la subunidad 18S rRNA, uno de la región ef-1 α y uno más de la región hsp82.

Pocos trabajos se han enfocado en averiguar las distancias genéticas entre los grupos de oribátidos, y algunos han encontrado que es posible discernir incluso entre géneros de la misma familia por diferencias de algunas regiones conservadas (Domes *et al.* 2007).

El conocimiento de la acarofauna en México es un tanto escaso, uno de los trabajos más importantes es el realizado por Hoffmann y López-Campos (2000), en el que hacen una recopilación de las especies que se encontraban registradas para nuestro territorio, citando 264 familias con 809 géneros y 2343 especies.

En nuestro país existen muy pocos trabajos sobre acarología, debido principalmente a la ausencia de especialistas en el tema más que a la escasez de organismos; dentro de éstos, los ácaros oribátidos del suelo han sido un grupo escasamente estudiado. Hasta el momento en México no existe ningún investigador dedicado a la superfamilia Galumnoidea, la que no es tan abundante o rica en especies como otros oribátidos, pero suelen estar bien representados en un gran número de ambientes.

Para el país se han realizado al menos tres listados importantes enumerando parte de la fauna conocida de oribátidos. En el trabajo de Hoffmann y López-Campos (2000) citan 353 especies, pertenecientes a 202 géneros. Posteriormente Palacios-Vargas e Iglesias (2004) citan 434 especies agrupadas en 250 géneros y 104 familias y el de Pérez *et al.* (2014), en el cual después de 10 años solamente incrementan un género y una especie en el listado. Actualmente se conocen a nivel mundial 10,498 especies y subespecies válidas de este grupo (+1,452 sinonimias), ubicadas en 1,252 géneros y 164 familias (Subías, 2014), siendo la región Neártica una de las menos estudiadas con sólo 1,108 especies registradas, mientras que en la región Neótropical encontramos 2, 106 especies. Entre ambas regiones biogeográficas se encuentra México, ocupando por tanto una posición privilegiada a nivel mundial.

México cuenta con el 63.4% del total de las familias de ácaros oribátidos a nivel mundial, 20% de los géneros y únicamente 4.1% de las especies. Estas cifras nos pueden dar una idea de la riqueza faunística aún no conocida, ya que al encontrarse en una zona de transición entre las regiones biogeográficas Neártica y Neotropical posee una amplia gama de características ecológicas, además de que es considerado un país megadiverso por ser

parte de un selecto grupo de 17 naciones que en su territorio poseen aproximadamente el 70% de la biodiversidad mundial.

Existen únicamente tres especies de Galumnidae que se han descrito para el país, una de cuevas de Yucatán (Wharton, 1938) y las otras dos provenientes de un ecosistema accidentado producto de un derrame lávico (Villagomez y Palacios-Vargas, 2013; 2015 (en prensa)). Dicha zona se encuentra inmersa en el territorio propiedad de la Universidad Nacional Autónoma de México, y actualmente cuenta con el decreto de área protegida, siendo conocida como la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA).

De la REPSA su flora ha sido bien documentada registrando al menos 350 especies (Rojo y Rodríguez, 2002). En cuanto a la fauna se conocen 37 especies de mamíferos, 106 especies de aves, tres especies de anfibios y nueve de reptiles. De la micofauna se citan 37 especies de macromicetos (Valenzuela *et al.* 2004), dos años más tarde se aumentan otros ocho registros para la misma reserva (Herrera *et al.* 2006). También se han realizado algunos trabajos sobre insectos (Ríos-Casanova y Cano-Santana, 1994), mientras que para microartrópodos existen pocos trabajos, los cuales se encuentran sesgados hacia el grupo Collembola (Arango-Galván *et al.* 2007).

Son escasos los artículos en los que se hace mención a algunos grupos de ácaros. De esta manera, Blanco-Becerril (2009) señala la existencia de una especie no identificada de ácaros prostigmados de la familia Erythraeidae, la que se encontró asociada a *Muhlenbergia robusta*. Entre estos registros, se citan siete especies de ácaros del suelo, una perteneciente a los mesostigmados, tres a los prostigmados y los últimos tres son oribátidos.

De los ácaros depredadores, son comunes en la reserva organismos mesostigmados de la familia Podocinidae (Ríos y Palacios-Vargas, 1998) y en particular, se registra la especie *Podocinum pacificum*. Los oribátidos son muy abundantes; sin embargo, sólo se han registrado tres especies: *Rhysotritia ardua* (Koch, 1841) (Euphthiracaridae), que se le considera una especie cosmopolita (Baran y Ayyildiz, 2000), *Scapheremaeus grahamius* Ríos y Palacios-Vargas, 1988 (Cymbaeremaeidae), descrito por primera vez en musgos sobre rocas de la REPSA, *Trichogalumna mexicana* Villagomez y Palacios-Vargas, 2013 y *Pilogalumna* sp. nov. (en prensa)(Galumnidae) de suelo de matorral de *Pittocaulon praecox*.

En el presente trabajo se describen cinco especies nuevas de ácaros Galumnidae, y de éstas, se obtuvieronlos fragmentos COI mitocondrial, proporcionando más del 100% del total de las secuencias existentes para la familia. Con esto será posible analizar las diferencias genéticas entre algunos géneros de la familia, y también de algunas especies dentro de *Pergalumna*, comparando dicha distancia con las características morfológicas y así aportar evidencia sólida y complementaria para una correcta delimitación y asignación de nuevas especies.

El género *Pergalumna* al igual que *Galumna*, son géneros bastante conflictivos, éstos han sido originalmente descritos en base a caracteres muy comunes distribuidos ampliamente por un gran número de especies de todas las regiones biogeográficas, y probablemente las agrupaciones resultantes son poco naturales. De las 470 especies que posee la familia Galumnidae 161 pertenecen a *Galumna* y 131 a *Pergalumna* (Subías, 2014), es decir, más de la mitad de la biodiversidad de la familia se encuentra en estos dos géneros. Sin embargo, ambos son grupos taxonómicamente funcionales en el sentido de que se facilita la agrupación y determinación por la combinación de algunos caracteres morfológicos, ya que en ambos géneros se ubican todas aquellas especies que no poseen alguna innovación morfológica evidente y por tanto su identificación suele ser conflictiva. En este análisis se pretende investigar la diferencia entre la variabilidad morfológica y genética del género *Pergalumna* y las diferencias genéticas entre este género y otros dentro de Galumnidae.

Objetivos

General

Incrementar el conocimiento de los ácaros oribátidos Galumnidae de México, mediante la descripción morfológica de nuevas especies, así como con el uso de técnicas moleculares.

Particulares

- 1) Realizar la descripción morfológica de cinco especies de Galumnidae pertenecientes a los géneros, *Pilogalumna*, *Pergalumna* y *Taeniogalumna*.
- 2) Caracterizar molecularmente a las especies de *Pergalumna* con el marcador COI.
- 3) Analizar la variación genética intraespecífica de las especies descritas de *Pergalumna*.
- 4) Analizar las diferencias a nivel molecular entre diferentes géneros de Galumnidae.
- 5) Comparar las diferencias morfológicas con la distancia genética entre las especies mexicanas de *Pergalumna*, así como con otras de géneros con los que se cuente información bibliográfica.

Metodología

Área de estudio

El presente trabajo se centrará en dos áreas naturales protegidas, la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) y la Estación de Biología Tropical de Los Tuxtlas (EBT). Ambas zonas son remanentes de vegetación autóctona, siendo la primera de matorral de

Pittocaulon y la segunda de bosque tropical perennifolio, igualmente ambas poseen una historia geológica basada en erupciones lávicas y su geología está dominada por materiales de origen piroclástico.

Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel

Historia

En 1983, la UNAM decretó la protección de 1.24 km² de terreno, dándole el estatus de zona ecológica inafectable y declarándola como "Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria" (Rojo, 1994, Rojo y Rodríguez, 2002). En 1990 esta zona se incrementó a 1.46 km² (Rojo, 1994) y, en 1996, después de intensos diálogos entre alumnos y profesores se logró que en 1997 se aprobara un incremento al área de 1.77 km², así como la creación de zonas de amortiguamiento externas a la reserva, denominadas áreas verdes de manejo especial (Cano-Santana *et al.* 2006), que tienen como objetivo aminorar el impacto sobre la biota de las zonas urbanas y la evidente contaminación que en ellas se genere.

Finalmente, en junio del 2005 la UNAM extendió el área a 237.3 hectáreas, incorporando las áreas verdes de manejo especial y otras zonas a la reserva ecológica (De la Fuente, 2005).

Localización

La REPSA se encuentra ubicada en una gran parte del terreno total de Ciudad Universitaria, campus propiedad de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Es uno de los últimos refugios para la biota autóctona en la región de la cuenca de México. Se encuentra ubicada en la Delegación Coyoacán, en la zona suroeste del Distrito Federal. La REPSA actualmente posee 237.3 hectáreas, divididas principalmente en una zona núcleo en calidad de inafectable, que comprende 171 hectáreas y una zona de 66 hectáreas que corresponde a la zona de amortiguamiento (De la Fuente, 2005).

Se localiza entre los 19°20'22 y 19°13'25'' N y 99°08'26'' y 99°14'03'' O, a una altitud que varía en un rango de 2200 a 2300 msnm (Hortelano-Moncada *et al.* 2009; Chávez y Ceballos, 1994)

Geología

La REPSA al ser originada por la erupción del volcán Xitle hace aproximadamente unos 1670 ± 35 años (Siebe, 2009), se caracteriza por la predominancia de un sustrato basáltico. Ostenta una topografía muy heterogénea, con una gran cantidad de poros, grietas, riscos, oquedades y pequeños barrancos, lo que confiere una gran cantidad de microhábitats potencialmente explotables por microflora y microfauna. La reserva posee un clima templado subhúmedo, con régimen de lluvias en verano. Dichas lluvias presentan una

marcada diferenciación en dos temporadas, siendo de lluvias la correspondiente a los meses de junio a octubre y la de secas que se presenta en el intervalo de noviembre a mayo; presenta una temperatura media anual de 15.5°C, además de una precipitación anual promedio de 835 mm (Castillo *et al.* 2004).

Vegetación

Debido a la heterogeneidad topográfica y el gradiente altitudinal, es posible encontrar una amplia gama de microclimas. En un inicio no existía el sustrato necesario para albergar toda la flora que existe actualmente, ya que sólo se encontraban grandes masas de material basáltico; sin embargo, la erosión y el acarreamiento paulatino de materiales fueron estableciendo ligeros sedimentos sobre el basalto, sedimentos en los cuales las primeras plantas pioneras o ruderales con ciclos de vida corto pudieron establecerse, iniciando el primer paso de una sucesión.

En la región puede haber un mosaico de comunidades vegetales, en relación estrecha con la altitud y la ubicación, de esta manera podemos encontrar desde el punto más alto al más bajo, bosque de *Aile*, bosque de *Pinus*, matorral de *Quercus* y el matorral de *Senecio* (*Pittocaulon*) praecox, siendo éste el más representativo de la zona. Dicho establecimiento vegetal también suele llamarse matorral de *Senecionetum praecoxis* (Rzedowski, 1954)

Estación de Biología Tropical de Los Tuxtlas

Historia

El nombre de la región de los Tuxtlas, proviene de la españolización de el vocablo náhuatl conejo (*toxtli*), haciendo referencia no sólo al conejo de monte (*Sylvilagus brasiliensis truei*) y al conejo de llano (*Sylvilagus floridanus russatus*) habitantes de la región (Martínez-Gallardo y Sánchez-Cordero, 1997), sino como un indicativo de la riqueza que alberga la región en cuestiones de biodiversidad.

La UNAM en 1967 por parte del Jardín Botánico del Instituto de Biología, comienza una serie de gestiones para adquirir parte de las regiones más conservadas de la zona de los Tuxtlas con el objetivo de establecer una zona de investigación para la biología tropical de nuestro país, la Estación de Biología Tropical de los Tuxtlas (Dirzo *et al.* 1997). Dicha estación comienza a funcionar un año después para cumplir con sus labores de investigación, enseñanza y difusión. El área total con que cuenta actualmente se adquiere en 1970 y hasta 1973 se comienzan las edificaciones para albergar formalmente a los estudiantes e investigadores.

La segunda fase de ampliación y construcción de las instalaciones se concluye hasta 1984 (Dirzo *et al.* 1997). A partir de esta fecha queda finalizada la edificación en una zona muy restringida para generar el mínimo impacto ambiental a la región.

Localización

La Sierra de los Tuxtlas es una formación montañosa de origen volcánico, ubicada en la llanura costera del Golfo de México (Soto y Gama, 1997) en el estado de Veracruz, en ésta se encuentra la Estación de Biología Tropical de los Tuxtlas. La estación posee un total de 644 hectáreas y se ubica a 30 kilómetros del poblado de Catemaco, sobre la carretera Catemaco-Montepio. Geográficamente se encuentra entre los 18°34' y 18° 36' N 95°04' y 95°09' O, localizándose al este del volcán San Martín Tuxtla.

El terreno en el que se encuentra alojado posee un rango altitudinal de los 150 msnm hasta los 700 msnm en la zona oeste (Dirzo *et al.* 1997).

Geología

La Sierra de los Tuxtlas es un conjunto montañoso de origen volcánico parcialmente separado de la Faja Volcánica Transversal. Se encuentra constituido por el macizo de San Andrés, dentro de éste, se distinguen siete grandes volcanes parcialmente erosionados y cientos de pequeños conos volcánicos. Las lavas, cenizas y demás piroclastos cubren casi la totalidad del área, existiendo pocos afloramientos de sedimentos marinos en la región.

El volcán más importante en la geología de la zona es el de San Martín o de Los Tuxtlas (Martín-Del Pozzo, 1997). La estación posee un clima Cálido-Húmedo, con una precipitación anual de más de 4500 mm, con presencia de lluvia todo el año, acentuándose en los meses de junio a febrero como temporada de "lluvias", y de "secas" en los meses de marzo a mayo. Posee una temperatura máxima anual de 27.3 °C y una mínima anual de 21.5°C (Portal web IBUNAM, 2013).

Vegetación

La vegetación que se encuentra en la reserva corresponde al bosque tropical perennifolio, también llamado selva alta perennifolia. Generalmente se pueden observar árboles grandes y de fuertes troncos, pero además se encuentran un gran número de lianas, palmas, bejucos y vegetación herbácea.

En la región podemos encontrar estratos arbóreos, arbustivos y herbáceos, pero además es muy frecuente encontrar en cantidades abundantes plantas epífitas, lianas y trepadoras, la familia con mayor número de especies es Orchidaceae, seguidas por Polypodiacea, Compositae y Leguminosae, los géneros más representativos son *Epidendrum*, *Ficus*, *Piper*, *Psychotria*, *Peperomia*, *Asplenium*, *Maxillaria*, *Eupatorium*, *Nectandra*, *Solanum* e *Inga* (Ibarra-Manríquez *et al.* 1997).
Método experimental

Colecta de muestras

Se colectaron muestras de suelo provenientes de la REPSA, de la Estación de Biología Tropical de Los Tuxtlas y de dos localidades cercanas, Playa Escondida y Laguna Escondida (Fig. 3), para tener una mayor representatividad genética de la especie y sus poblaciones (Cuadro1). Las muestras fueron procesadas mediante embudos de Berlese-Tullgren durante 6 días, de los cuales, los últimos tres estuvieron expuestos a la luz y calor de una bombilla, usando el fototropismo negativo que tienen la mayoría de los organismos edáficos; así, se enterraban hasta llegar a un frasco colector con alcohol al 96%, dicho material fue conservado a -20 C para evitar el proceso de desnaturalización del ADN.



Figura 3. Mapa de ubicación de las localidades muestreadas para este estudio, pertenecientes a los estados de Veracruz y el Distrito Federal, México.

Localidad	Especies encontradas	Especies caracterizadas molecularmente	Clave de las especies y ejemplares	Marcador
Estación	Pergalumna granulosa	/	M516	COI
Los Tuxtlas	sp. nov.	\checkmark	M517	
	Pergalumna dactilaris	/	M616	COI
	sp. nov.		M617	
			M618	
	Taeniogalumna	/	M216	COI
	<i>tuxtlaenis</i> sp. nov.		M217	
			M218	
	<i>Galumna obsidiana</i> sp. nov.	\approx		
Playa	Pergalumna granulosa		M515	COI
Escondida	sp. nov.	\checkmark		
	Pergalumna dactilaris sp. nov.	~	M615	COI
Laguna Encantada	<i>Taeniogalumna</i> <i>tuxtlaensis</i> sp. nov.	\checkmark	M215	COI
	Pergalumna granulosa sp. nov.	\checkmark	M518	COI
	<i>Galumna obsidiana</i> sp. nov.	\approx		
REPSA	Pilogalumna rosauraruizae sp. nov.	\checkmark	Pr1	18S
	Trichogalumna mexicana Villagomez & Palacios-Vargas, 2013		Tm1	185

Cuadro 1. Especies encontradas por localidad y caracterizadas molecularmente.

Manejo e identificación

Los diferentes ejemplares de la familia Galumnidae fueron separados manualmente en morfoespecies, con el objetivo de iniciar la identificación y descripción de las mismas. Algunos ejemplares adicionales se separaron para llevar a cabo el proceso de extracción de material genético y efectuar los análisis moleculares de estos organismos.

Una vez separados, se procede a realizar preparaciones temporales de los morfotipos. Para la identificación, es necesario realizar micro disecciones para observar algunas características anatómicas particulares, ya que algunos caracteres básicos sólo se pueden apreciar desde una perspectiva lateral.

En la elaboración de las preparaciones semipermanentes, se deben introducir los ácaros en una cápsula de porcelana a la cual se le agrega ácido láctico, para comenzar con el proceso

de aclaramiento o maceración, esta cápsula se introduce en una estufa a una temperatura de 50°C durante una semana a uno o dos meses (dependiendo del esclerosamiento del organismo). Una vez que se han aclarado, se procede a montarlos en líquido de Hoyer sobre un portaobjetos, seguido de la cobertura por un cubreobjetos.

Las micro-disecciones son necesarias para el proceso de identificación y descripción de los ejemplares de la familia Galumnidae y se realizan de la siguiente forma:

Se inicia partiendo el portaobjetos en ocho segmentos imaginarios, dentro del cual el primero corresponderá a los quelíceros, el segundo a la parte restante del prodorso, el tercero al notogáster y los pteromorfos, el cuarto a la región ventral opistosómica, el quinto al primer par de patas, el sexto al segundo par de patas, el septimo al tercer par y el octavo al cuarto par. Para evitar fracturas por la fisonomía de los ácaros, en los cuadrantes tres y cuatro, es necesario hacer una muesca con un microrotor para que albergue al organismo, evitando que por el mismo peso del vidrio despedace al ejemplar.

La determinación de los adultos de Galumnidae se llevó a cabo por claves dicotómicas (Balogh y Balogh, 1990; 1992 y 2002). Las ilustraciones fueron realizadas en un microscopio de cámara clara con un tubo de dibujo adaptado, se tomaron fotografías en el microscopio electrónico de barrido del Instituto de Biología, las imágenes se editaron en Photoshop CS5 para su presentación final.

Caracterización molecular

Los ejemplares colectados fueron preservados en alcohol al 96% y almacenados a -20°C previo a la extracción del material genético. Los adultos fueron identificados previamente por el método de lámina abierta usando las claves de Balogh & Balogh, (2003) y la comparación con descripciones publicadas. El DNA fue extraído de un solo ejemplar usando dos kits comerciales (MasterpureTM Complete DNA and RNA purification kit de Epicentre y Animal Genomic DNA Extraction Kit de BiobasicTM) y por medio de la resina Chelex100. Los protocolos de los métodos de extracción de DNA pueden ser consultados en el apéndice 1.

Los marcadores usados son los correspondientes al segmento mitocondrial Citoctomo Oxidasa c 1 (COI), que es usado ampliamente en los análisis de código de baras de la vida (Hebert et al. 2003) y el nuclear 18S rRNA, los primers usados (Cuadro 2) fueron los mismos manejados por Dabert *et al.* (2010) para 18S rRNA y Folmer *et al.* 1994 y Ji *et al.* 2003 para COI.

Primer	Tipo	Marcador	Secuencia 5' – 3'
Fw1230	Forward	18S rRNA	TGAAACTTAAAGGAATTGACG
Rev18S	Reverse	18S rRNA	TGATCCTTCCGCAGGTTCACCT
LCO1490	Forward	COI	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG
HCO2198	Reverse	COI	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA

Cuadro 2. Oligonucleótidos usados en el proceso de amplificación de DNA de los ácaros galúmnidos

La amplificación del material genético se llevó a cabo por la técnica de PCR, siguiendo los protocolos usados por Dabert *et al.* (2010), Folmer *et al.* 1994 y Ji *et al.* 2003 con la modificación del volumen total de 15 a 25 μ l y el uso de 3 a 6.5 μ l del templado de DNA, dependiendo de la concentración de nanogramos por microlitro, teniendo como mínimo 10 ng/ μ l.

Se realizó una purificación adicional del material genético previo a la secuenciación. Para ello en 10 μ l del volumen de amplificación se agregan 30 μ l de Binding Buffer I, se traslada todo a una columna y se deja reposar dos minutos a temperatura ambiente, se continúa con un proceso de centrifugado a 10,000 rpm durante dos minutos y se desechan los líquidos obtenidos en el tubo recolector, se agrega 750 μ l de Wash Solution y se centrifuga otros dos minutos a 10,000 rpm tirando nuevamente lo retenido en el tubo colector.

Se repite el paso anterior, pero esta ocasión se centrifuga durante 3 minutos y se pasa la columna a un tubo colector limpio, añadiendo 50 μ l de buffer de elución, se centrifuga durante dos minutos a 10,000 rpm y se colocan las muestras a la vacufuga, donde permanecerán abiertos para su desecación y así, puedan cumplir las características básicas para el proceso de secuenciación, realizada en el secuenciador automático del Instituto de Biología de la UNAM.

Análisis de las secuencias

Se secuenciaron cuatro ejemplares de la misma especie y de tres localidades (Los Tuxtlas, Laguna Escondida y Playa Escondida), para observar la variación genética entre poblaciones, además se comparó dicha distancia con otras especies del mismo género.

Se obtuvieron 12 secuencias de tres especies del marcador COI de 662 pares de bases cada una, a partir de ejemplares de ácaros oribátidos de la familia Galumnidae. Se usó la herramienta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (disponible en la página de GenBank:<u>http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi</u>) en todas las secuencias obteniendo 98-99% de cobertura y 78-84% de identidad con *Suctobelbella* sp, *Euremaeus* sp. y *Oribatella* sp. (Cuadro 3) denotando que las secuencias generadas pertenecen efectivamente al grupo

de interés. Éstas fueron usadas junto con 50 secuencias previamente publicadas de ácaros oribátidos (Cuadro 4) para los análisis filogenéticos, los árboles fueron enraizados con cuatro secuencias de la especie *Steganacarus magnus*, que es una de las especies basales de Poronota.

Secuencia	Especie	%	%	Especie relacionada	Número
		Cobertura	Identidad		de Acceso
M616	Pergalumna dactilaris sp. nov.	99	80	Suctobelbella sp.	JX838733
M617	<i>Pergalumna dactilaris</i> sp. nov.	99	80	Suctobelbella sp.	JX838733
M615	Pergalumna dactilaris sp. nov.	99	78	Euremaeus sp.	JX833700
M614	Pergalumna dactilaris sp. nov.	96	80	Suctobelbella sp.	JX838733
M518	Pergalumna granulosa sp. nov.	96	83	Euremaeus sp.	JX837845
M517	Pergalumna granulosa sp. nov.	99	84	Euremaeus sp.	JX837845
M516	Pergalumna granulosa sp. nov.	99	84	Euremaeus sp.	JX837845
M515	<i>Pergalumna granulosa</i> sp. nov.	98	83	Oribatella bulanovae	HQ558338
M218	Taeniogalumna tuxtlaensis sp. nov.	98	84	Oribatella sp.	JX834481
M217	Taeniogalumna tuxtlaensis sp. nov.	98	84	Oribatella sp.	JX834481
M216	Taeniogalumna tuxtlaensis sp. nov.	98	84	Oribatella sp.	JX834481
M215	Taeniogalumna tuxtlaensis sp. nov.	98	84	Oribatella sp.	JX834481

Cuadro 3. Secuencias del marcador COI generadas en este trabajo y las secuencias relacionadas de ácaros oribátidos mediante BLAST disponibles en GenBank.

La edición de las secuencias fue realizada en BioEdit v.7.2.5 (Hall, 1999), usando en el forward y reverse el CapContig integrado en el mismo y analizando su correlación con ambos electroferogramas. Posteriormente fueron alineadas en Mesquite v.3.01 (Madison y Madison, 2011) con la opción MAFFT v.7.215 (Katoh, *et al.* 2002; Katoh y Toh, 2008) con un máximo de 100 refinamientos iterativos. Los gaps fueron tomados como un quinto estado a excepción del análisis en BEAST en donde son tomados como datos faltantes por criterio del programa.

Para obtener la información del alineamiento con MAFFT de 62 secuencias de ácaros oribátidos se transformó la matriz en Mesquite en formato Phyllip, y se cargó en el programa DNAsp (Rozas y Rozas, 1995; Librado y Rozas, 2009) donde se realizó un análisis de los sitios polimórficos y se obtuvo que de la matriz de 662 caracteres, 395 son sitios con gaps, 120 caracteres constantes y147 son caracteres variables con un total de 287 mutaciones, dentro de estos caracteres es posible encontrar también 145 sitios informativos.

Se utilizó jModelTest v.3.7 (Posada y Crandall, 1998) con 11 esquemas de sustitución, incluyendo modelos con frecuencias empíricas, modelos con una proporción de sitios invariantes (I) y con tasas de variación entre sitios (G), usando un árbol de máxima

verosimilitud optimizado para los cálculos calculando el criterio de información de Akaike (AIC) (Akaike, 1973). El modelo de sustitución generado por estos parámetros fue el de GTR+G+I, y fue utilizado para los análisis de máxima verosimilitud.

Se realizó un análisis bayesiano con el programa MrBayes v.3.2.3 (Huelsenbeck y Ronquist, 2001; Ronquist y Huelsenbeck, 2003) con los parámetros Pinvar+Gamma (I+G), con 10⁶ generaciones y cuatro cadenas, donde cada cadena fue muestreada cada 1000 generaciones. Los árboles descartados por el burn-in fueron del 25% del universo de árboles muestreados. Se realizaron dos corridas y se obtuvieron un total de 10,001 árboles de cada una, de todos ellos se obtuvo un árbol de consenso de mayoría que incluye las probabilidades posteriores de los clados y las longitudes de rama.

La misma matriz fue analizada también con raxmlGUI v.1.3.1 (Stamatakis, 2006; Silvestro y Michalak, 2012) con los parámetros ML+slow bootstrap, con 100 corridas y autoMRE, branchlengths (Brl) y GTR+G+I, teniendo como grupo externo a *Steganacarus magnus*, y se generó un mejor árbol entre el universo de árboles muestreados.

El alineamiento se migró por medio de BEAUti v.1.8.1 en formato BEAST v.1.8.1 (Drummond y Rambaut, 2007; Drummond et al., 2012), el cual realiza un análisis bayesiano por medio de MCMC para generar un árbol ultramétrico, donde la longitud de las ramas representa los cambios evolutivos y por tanto las distancias evolutivas. Para esto se usó un modelo de reloj molecular estricto con base en el modelo de Hasegawa, Kishino y Yano (HKY) (Hasegawa *et al.*, 1985), que posee un promedio de mutación de 0.02 por cada millón de generaciones (Fujisawa & Barraclough, 2013), con una longitud de la cadena de 10⁷, generando 10001 árboles, mismos que fueron cargados en el programa TreeAnnotator v.1.8.1 donde de todo este universo de árboles se creó un árbol de Máxima credibilidad de clados. Dicho árbol fue migrado a formato Newick en FigTree v.1.4.2 y fue usado para el proceso de delimitación de especies con los métodos Generalized Mixed Yule Coalescence (GMYC) y Bayesian Poisson Tree Processes (bPTP).

Se repitió el procedimiento cambiando el modelo de sustitución por GTR+G+I, modelo que había sido generado por jModelTest, todos los demás parámetros fueron conservados, se generó el mismo número de árboles y también fueron cargados en TreeAnnotator, en donde se obtuvo un mejor árbol, mismo que fue migrado en formato Newick en FigTree y usado para la delimitación de especies con bPTP y GMYC.

GMYC (disponible en: <u>http://species.h-its.org/gmyc/</u>) es un método basado en máxima verosimilitud para la delimitación de especies que utiliza únicamente datos de un locus, éste realiza un ajuste de modelos ramificados dentro de una y más especies para los árboles de genes construidos y tiene como supuesto que las especies conforman clados monofiléticos.

Cuadro 4. Clasificación taxonómica (Basado en Krantz y Walter, 2009), número de acceso y clave en los análisis de las secuencias del marcador COI de los ejemplares usados en este trabajo (* Secuencias usadas como grupo externo).

Abreviaturas. GB= GenBank; B= BOLD

Género y especie	Número de acceso	Clave	Superfamilia	Familia
Pergalumna dactilaris sp. nov.	GB: Presente trabajo	M614	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna dactilaris sp. nov.	GB: Presente trabajo	M615	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna dactilaris sp. nov.	GB: Presente trabajo	M616	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna dactilaris sp. nov.	GB: Presente trabajo	M617	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna granulosa sp. nov.	GB: Presente trabajo	M515	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna granulosa sp. nov.	GB: Presente trabajo	M516	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna granulosa sp. nov.	GB: Presente trabajo	M517	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna granulosa sp. nov.	GB: Presente trabajo	M518	Galumnoidea	Galumnidae
Taeniogalumna tuxtlaensis sp. nov.	GB: Presente trabajo	M215	Galumnoidea	Galumnidae
Taeniogalumna tuxtlaensis sp. nov.	GB: Presente trabajo	M216	Galumnoidea	Galumnidae
Taeniogalumna tuxtlaensis sp. nov.	GB: Presente trabajo	M217	Galumnoidea	Galumnidae
Taeniogalumna tuxtlaensis sp. nov.	GB:	M218	Galumnoidea	Galumnidae
Galumnidae sp.	GB: JX838230	G1	Galumnoidea	Galumnidae
Galumnidae sp.	GB: JX838222	G2	Galumnoidea	Galumnidae
Galumnidae sp.	GB: JX838149	G3	Galumnoidea	Galumnidae
Galumnidae sp.	GB: JX837856	G4	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna sp.	GB: GQ864384	P1	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna sp.	B: CNPEO1289-14	P2	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna sp.	B: CNSLR125-13	P3	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna sp.	B: CNKOS1434-14	P4	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna sp.	B: CNROF649-13	P5	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna sp.	B: CNSLR124-13	P6	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna sp.	B: CNSLR126-13	P7	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna sp.	B: CNSLR111-13	P8	Galumnoidea	Galumnidae
Pergalumna nervosa (Berlese, 1914)	GB: GQ864381	Pn	Galumnoidea	Galumnidae
Acrogalumna longipluma (Berlese, 1904)	GB: GQ864373	Al	Galumnoidea	Galumnidae
Steganacarus magnus (Nicolet, 1855)	GB: Y07973	Sm	Ameroidea	Staurobatidae
Steganacarus magnus(Nicolet, 1855)	GB: Y07972	Sm1	Ameroidea	Staurobatidae
Steganacarus magnus (Nicolet, 1855)	GB: Y07971	Sm2	Ameroidea	Staurobatidae
Neoribates aurianticus (Oudemans, 1914)	GB: JX838645	Na	Neoliodoidea	Neoliodidae
Neoribates aurianticus (Oudemans, 1914)	GB: JX837801	Na1	Neoliodoidea	Neoliodidae
Neoribates aurianticus (Oudemans, 1914)	GB: JX837225	Na2	Neoliodoidea	Neoliodidae
Neoribates aurianticus (Oudemans, 1914)	GB: JX834973	Na3	Neoliodoidea	Neoliodidae
Neoribates aurianticus (Oudemans, 1914)	GB: JX834457	Na4	Neoliodoidea	Neoliodidae
Cymbaeremaeus cymba (Nicolet, 1855)	GB: GU208618	Cc	Cymbaeremaeoidea	Cymbaeremaeidae
Cymbaeremaeus cymba (Nicolet, 1855)	GB: GU208617	Cc1	Cymbaeremaeoidea	Cymbaeremaeidae
Cymbaeremaeus cymba (Nicolet, 1855)	GB: GU208616	Cc2	Cymbaeremaeoidea	Cymbaeremaeidae
Oppiella nova (Oudemans, 1904)	GB: KF293511	On	Oppioidea	Oppiidae
Oppiella nova (Oudemans, 1904)	GB: KF293510	On1	Oppioidea	Oppiidae

Oppiella nova (Oudemans, 1904)	GB: KF293509	On2	Oppioidea	Oppiidae
Oppiella nova (Oudemans, 1904)	GB: KF293508	On3	Oppioidea	Oppiidae
Eupelops septentrionalis (Tragardh, 1910)	GB: HQ558591	Es	Phenopelopoidea	Phenopelopidae
Eupelops septentrionalis (Tragardh, 1910)	GB: HQ558564	Es1	Phenopelopoidea	Phenopelopidae
Eupelops septentrionalis (Tragardh, 1910)	GB: HQ558563	Es2	Phenopelopoidea	Phenopelopidae
Eupelops septentrionalis (Tragardh, 1910)	GB: HQ558562	Es3	Phenopelopoidea	Phenopelopidae
Mycobates conitus Hammer, 1952	GB: HM907352	Mc	Ceratozetoidea	Mycobatidae
Mycobates conitusHammer, 1952	GB: GU680485	Mc1	Ceratozetoidea	Mycobatidae
Mycobates conitus Hammer, 1952	GB: GU680483	Mc2	Ceratozetoidea	Mycobatidae
Mycobates conitus Hammer, 1952	GB: GU680481	Mc3	Ceratozetoidea	Mycobatidae
Mycobates perates Behan-Pelletier, 1994	GB: HQ941491	Мр	Ceratozetoidea	Mycobatidae
Mycobates perates Behan-Pelletier, 1994	GB: HQ558705	Mp1	Ceratozetoidea	Mycobatidae
Mycobates perates Behan-Pelletier, 1994	GB: HQ558619	Mp2	Ceratozetoidea	Mycobatidae
Mycobates perates Behan-Pelletier, 1994	GB: HQ558364	Mp3	Ceratozetoidea	Mycobatidae
Achipteria coleoptrata (Linnaeus, 1758)	GB: KC502039	Ac	Achipteroidea	Achipteridae
Achipteria coleoptrata (Linnaeus, 1758)	GB: KC502038	Ac1	Achipteroidea	Achipteridae
Nothrus pratensis Sellnick, 1928	GB: HQ941504	Np	Crotonoidea	Nothridae
Nothrus pratensis Sellnick, 1928	GB: HQ941503	Np1	Crotonoidea	Nothridae
Nothrus pratensis Sellnick, 1928	GB: HQ941502	Np2	Crotonoidea	Nothridae
Nothrus pratensis Sellnick, 1928	GB: HQ941501	Np3	Crotonoidea	Nothridae
Trhypochthonius tectorum (Berlese, 1896)	GB: HQ711381	Tt	Crotonoidea	Trhypochthoniidae
Oribatella bulanovae Kulijev, 1967	GB: HQ558775	Ob	Oribatelloidea	Oribatellidae
Oribatella bulanovae Kulijev, 1967	GB: HQ558625	Ob1	Oribatelloidea	Oribatellidae

El método se basa en la predicción de que la evolución independiente de los clados generará la aparición de distintos clusters genéticos, separados por ramas internas más largas; de tal forma que el programa delimita estos clusters por medio de la optimización de los nodos que definen los procesos intra e interespecíficos buscando y encontrando la mejor solución con la máxima verosimilitud, todo esto unificando un modelo que combina la diversificación entre especies (modelo de Yule) y la ramificación genealógica entre especies (Coalescencia neutral) (Fujisawa & Barraclough, 2013).

bPTP (disponible en: <u>http://species.h-its.org/ptp/</u>) es un método basado en el supuesto de que una mutación o cambio en un par de bases tienen una probabilidad muy baja de generar una nueva especie, por lo que pueden ser estudiadas mediante la distribución de Poisson, la cual es una distribución de probabilidad discreta que expresa la probabilidad de ocurrencia de un número de eventos durante cierto periodo de tiempo, especializándose en sucesos con probabilidades de ocurrencia muy bajos. El árbol fue enraizado con la rama más larga, con un número de 10⁴ generaciones en MCMC y un burn-in de 10% Con estos factores se generó un árbol con la mejor solución de máxima verosimilitud y otro con la solución

bayesiana mejor soportada, de tal forma que este método agrega valores de soporte bayesianos (BS) a la delimitación de las especies, con lo que valores más altos de BS en un nodo indican que todos los descendientes de este nodo son probabilísticamente más propensos a formar parte de la misma especie (Zhang, et al., 2013).

Se utilizó el programa Character Attribute Organization System (CAOS) (disponible en: http://boli.uvm.edu/caos-workbench/) (Sarkar et al., 2008) para generar estados de carácter diagnósticos de cada una de las agrupaciones generadas por GMYC y PTP, con lo que fue posible encontrar caracteres variables compartidos entre grupos y otros que sólo posee una especie o incluso un individuo, favoreciendo con esto la identificación de caracteres autopomórficos, mismos que son de utilidad para soportar los procesos de determinación y delimitación de especies. Finalmente se obtuvieron las distancias genéticas a partir del alineamiento con MAFFT con base en los parámetros de Kimura 2P (Kimura, 1980) en PAUP v4.0. (Swofford, 2003).

Resultados

Taxonomía

Diagnosis de la Familia Galumnidae

Ácaros de tamaño mediano a grande, generalmente bien esclerosados, con lamelas reducidas a simples líneas o crestas poco salientes (Líneas L) o ausentes. Nunca con translamela. Los tentorios pueden tener el aspecto de líneas o crestas bajas (Lineas S) o sin ellas. Sin incisión genal.

Notogáster con 10, 13 ó 14 pares de sedas, generalmente reducidas a los alveolos. Pteromorfos grandes en forma de oreja, articulados con charnela. Áreas porosas bien desarrolladas, en ocasiones con porosidad adicional o sáculos. Área ventral con seis pares de sedas genitales, un par de agenitales, dos pares de anales y tres de adanales (G: 6, Ag: 1, An: 2, Ad: 3), salvo casos de neotriquia. Quelíceros de forma normal. El borde anterior del hipostoma se prolonga por un tectum que oculta la boca y protege el camerostoma.

Los estados inmaduros son unideficientes, con un escudo impar circumgenital. En algunos géneros ya poseen áreas porosas. Tienen una fórmula genital de larva al adulto: 1-3-5-6 (Pérez-Iñigo, 1993).

Descripción de especies.

Nomenclatura basada en Engelbrecht (1972)

Pergalumna (Grandjean, 1936)

Especie tipo Oribata nervosa Berlese, 1914

Diagnosis genérica: Líneas prodorsales L y S presentes; con áreas porosas verdaderas; con 10 pares de sedas notogástricas que pueden reducirse a alveolos; sutura dorsoseyugal generalmente interrumpida; notogáster nunca foveolado; seda lamelar entre las líneas L; notogáster redondeado, algunos con dimorfismo sexual; lirifisuras adanales adyacentes a los márgenes de la placa genital; patas tridáctilas (Balogh, 1958, 1960; Balogh y Balogh, 1992)

Pergalumna granulosa sp. nov. (Figs. 4–17; Lám. 1)

Descripción. Medidas en µm (entre paréntesis las medidas promedio). Longitud (L=) y anchura (A=).

(N=10) Longitud 470-490 (480), anchura 350-390 (370), altura 370-390 (380). Color café cobrizo, ligeramente más claro en la región media prodorsal.

Seda sensilar (sensilo) setiforme con barbulaciones unilaterales; cerotegumento granulado en todo el cuerpo otorgando un aspecto brillante y cobrizo debido a la refringencia; todas las sedas prodorsales presentes; área porosa *A2* ausente; sin sutura dorsoseyugal; lirifisura *iad* cerca de la placa anal; sin área porosa postanal; con protuberancias laterales de posición asimétrica.

Prodorso (Fig. 6). Superficie densamente granulada; líneas L y S presentes; área porosa dorsoseyugal (Ad) (L=15, A=6) pequeña y oval; sedas prodorsales (Fig. 8) setiformes y barbuladas. Seda interlamellar (*in*) más larga que las otras sedas prodorsales (exceptuando *ss*) ligeramente erecta (95), seda lamelar (la) de tamaño intermedio y ligeramente curva (78), seda rostral (*ro*) pequeña, insertada en el límite de la placa ventral, erecta (51).

Sensilo (*ss*) (Fig. 8) setiforme, largo y delgado (140), curvo y con una fila de barbulaciones en el margen externo, sin ornamentación, sin inserción en forma de "S" en el botridio. Quelíceros (Fig. 10) de forma normal (L=167, A=47), ornamentados con puntuaciones en la región anterior hasta la zona media, seda *cha* (47) más larga que *chb* (30), ambas barbuladas.

Notogáster (Fig. 4). Cerotegumento densamente granulado (Fig. 12), con ornamentación irregular en la región media, más desarrollada en la zona anterior; 10 pares de sedas vestigiales reducidas a alveolos. Sin poro medio; áreas porosas notogástricas presentes excepto *A2*.

Área porosa *Aa* alargada (L=29, A=11), *te* cerca de la inserción del pteromorfo, seda *ti* ubicada hacia la línea sagital; Área porosa *A1* alargada, de forma y tamaño variable (L=31-50, A=7-12), en ciertos ejemplares teratológicos puede encontrarse dividida en uno de los lados (Fig. 4), denotando su posible origen como una fusión de las áreas porosas *A1* y *A2*; lirifísura *im* encima de la glándula opistosomal (*gla*). Debajo de *A1* se encuentra *r2*, lirifísuras *ih* e *ips* rodeando *p3*. Área porosa *A3* en la región posterior, más pequeña que las demás áreas porosas notogástricas (L=18, A=11), rodeada por *r1*, *p1* y *p2*, lirifísura *ip* entre *p1* y *p2*.

Pteromorfos (Fig. 13) bilobulados (L=222, A= 187 en la región proximal, 170 en la media y 200 en la distal), con cerotegumento verrugoso, ornamentaciones irregulares esclerozadas en forma de líneas delgadas y gruesas, con una muesca central; lirifísura *ia* por debajo de la muesca; *ta* en posición habitual.

Placa ventral (Fig. 5). Cerotegumento densamente granulado en toda la placa. Hipostoma (Fig. 9) (103 largo y 108 ancho) granulado, seda h corta (15); sedas epimerales 1b, 3a, 3b y 4a presentes, cortas (8), un par de sedas agenitales cortas (8), tres pares de sedas adanales cortas (8) en la posición característica al género; lirifisura *iad* cerca de la placa anal y ligeramente por debajo de *ad3*, sin área porosa postanal (Fig. 11); placa genital (87 largo y 109 ancho) granulada, con 6 sedas cortas (7) insertadas en fórmula de 2-4; placa anal (70 largo y 86 ancho) granulada con dos pares de sedas cortas (6).

Región lateral (Fig. 7). Prodorso granulado, región anterior con una coloración más clara en la parte central, líneas L y S presentes, arqueadas y paralelas, una cerca de la otra. *in* entre las líneas L de forma típica en el grupo, línea circumpedial gruesa y esclerozada, ápice del rostro puntiagudo.

Patas. Todas las patas con granulación en la parte basal del fémur, uñas heterotridáctilas. Fórmula de la quetotaxia de las patas 1-IV (solenidios entre paréntesis). Fémur 4-4-2-2; genua 3(1)-3(1)-1(1)-2; Tibia 4(2)-4(1)-3(1); Tarso 20(2)-15(2)-15-12.

Pata I (Fig. 14). Fémur L=112, A=48; genua L=48, A=16; tibia L=50, A=33; tarso L=95, A=16. Solenidio σ (128) insertado distalmente, solenidios φI (151) y $\varphi 2$ (70) dorsales. ωI (47) anterior a ft'', $\omega 2$ (75) posterior. Famulus (ε) muy corto (3), ubicado entre $\omega 2$ y ft''. *Pata II* (Fig. 15). Fémur L=112, A=39; genua L=37, A=14; tibia L=48, A=22; tarso L=63, A=20. Solenidio σ (86), insertado cerca del ápice, φ (80) cerca del margen, dorsal. ωI y $\omega 2$ de forma y tamaño idéntico (32), con el ápice romo, entre ambas se sitúa la seda ft'.

Pata III (Fig. 16). Fémur L=80, A=44; genua L=20, A= 13; tibia L=61, A=23; tarso L=78, A=19. Solenidio σ (36) con ápice romo, φ (80) dorsal, a la misma altura que la seda v''. *Pata IV* (Fig. 17). Fémur L=94, A=53; genua L=39, A=13; tibia L=78, A=23; tarso L=97, A=19. Solenidio φ (102) dorsal y posterior a un pliegue cuticular.

Material tipo. Ejemplares en preparaciones semipermanentes. Holotipo 3° con los datos de colecta. 09/VI/2014, México, Veracruz, Estación de Biología Tropical de Los Tuxtlas, Suelo y Hojarasca, L. Villagomez, A. D. Ruiz y L. A. Martínez cols. 18°35'02.04'' N, 95°04'39.54'' W. 242 m snm. Tres paratipos 3° con los mismos datos excepto 15/X/2012, 11 paratipos más con la fecha 18/IV/2014, 5 9° y 6 3° . Todo el material tipo ubicado en la Colección de Collembola de México y Ácaros Edáficos del Laboratorio de Ecología y Sistemática de Microartrópodos (LESM), Facultad de Ciencias, UNAM. Se integran también 15 ejemplares paratipos en alcohol en dicha colección.

Etimología. El nombre específico "*granulosa*" hace referencia a la granulación cerotegumentaria presente en todo el cuerpo.

Discusión. Debido a la granulación que exhibe, *Pergalumna granulosa* sp. nov. se asemeja a *P. granulatus* Balogh & Mahunka, 1967 de Vietnam, de la que se diferencia por el sensilo setiforme barbulado sólo de un lado y no en todos los ejes. De *P. elongatiporosa* Ermilov *et al.* 2014 de Costa Rica, porque posee las áreas porosas *A1* alargadas y plegadas posteriormente en forma de "herradura", mientras que en esta especie son rectas. También posee similitud con *P. paralongisetosa* Ermilov & Kalúz, 2012 de Ecuador, pero posee únicamente el prodorso granulado, mientras que el notogáster es liso; tiene un sensilo mucho más pequeño que la seda interlamelar, posee sedas adanales extremadamente largas y es una especie de talla muy grande (1062-1261 largo y 713 – 863 de ancho). Finalmente *P. silvatica* Hammer, 1961 de Perú también tiene la región anterior del prodorso granulada, sin embargo la seda interlamelar es diminuta, posee cuatro pares de áreas porosas notogástricas circulares, mientras que *P. granulosa* sp. nov. sólo posee tres pares, y todas son alargadas.

Pergalumna dactilaris sp. nov. (Figs. 19-30; Lám. 2)

Descripción. Medidas en µm (entre paréntesis las medidas promedio). Longitud (L=) y anchura (A=).

(N=10) Longitud 838 – 986 (870), anchura 720 – 789 (750), altura (734). Color negro a café oscuro, con una región amarilla claro en la base del prodorso y la región anterior del notogáster.

Sensilo setiforme; cerotegumento densamente estriado en la mayor parte del cuerpo, con orientación generalmente vertical, algunas pueden ser líneas horizontales que unen dos estrías verticales; *A2* ausente; notogáster con 10 pares de alveolos; sutura dorsoseyugal completa; lirifisura *iad* cerca de la placa anal; sin área porosa postanal; sin poro medio.

Prodorso (Fig. 20). Superficie granulada en la región anterior; cerca de la sutura dorsoseyugal la ornamentación desaparece e inicia una ornamentación estriada irregular; sutura dorsoseyugal dividiendo una región muy grande pigmentada de amarillo intenso, ésta, continúa hasta la parte anterior del notogáster; líneas L y S presentes, muy esclerosadas; Ad aparentemente ausente. Sedas prodorsales (Fig 22) presentes, *in* corta y setiforme, lisa (32), *la* larga y barbulada (114), *ro* casi del mismo tamaño que *la*, pero poco más pequeña (98), insertada en el límite de la placa ventral, barbulada. En vista dorsal se aprecia una depresión poco antes de la inserción de *la*, ápice del rostro romo.

Sensilo (Fig. 22) setiforme, largo y delgado (126), apicalmente barbulado, sin inserción en forma de "S" en el botridio. Quelíceros (Fig. 23) normales (L=290, A=109), ornamentados con puntuaciones de la región anterior hasta la media, seda *cha* (81) y *chb* (52) barbuladas.

Notogáster (Fig. 18). Cerotegumento estriado completamente, 10 pares de alveolos, se observa un poro extra entre *te* y *ti* nombrado por Ermilov & Kaluz (2012) como *lx*, por lo cual se conserva dicha nomenclatura; sin poro medio; sin área porosa A2, las demás similares.

Areas porosas Aa (L=32, A=20) y A1 (L=37, A=17) ovaladas a circulares, A3 (L=20, A=17) ovalada. Sedas y lirifísuras en la misma posición que *Pergalumna granulosa* sp. nov., a excepción de las lirifísuras *ih* e *ips* que se encuentran lateralmente y encima de A1, glándula opistosomal (*gla*) desarrollada y protuberante.

Pteromorfos bilobulados (Fig. 26) (L=425, A=205 en la región convexa proximal, 220 en la media y 235 en la distal), cerotegumento granular, ornamentación estriada desde la base hasta la región media, con ornamentaciones adicionales lineales e irregulares esclerozadas, con una muesca central; lirifisura *ia* gruesa por debajo de la muesca; *ta* en la posición regular.

Placa ventral (Fig. 19). Cerotegumento densamente estriado en toda la placa. Hipostoma (Fig. 24) (L=164, A=178 ligeramente granulado y ornamentado, seda *h* larga (25); sedas epimerales de diferentes dimensiones, *1b* (17) corta, mientras que *3a*, *4a y 3b* (27) más largas y de igual tamaño entre sí; sedas agenitales cortas (20), tres pares de sedas adanales cortas (15) con *ad3* ligeramente separada; lirifísura *iad* cerca de la placa anal; sin área porosa postanal (Fig. 25); placa genital (L=115, A=121) ligeramente estriada, con 4 líneas longitudinales, con 6 sedas cortas (15) insertadas en fórmula de 2-4; placa anal (L=164, A=175) estriada completamente, con dos pares de sedas anales cortas (15).

Región lateral (Fig. 21). Líneas L y S presentes muy esclerosadas, arqueadas y paralelas, línea S ligeramente irregular; línea circumpedial gruesa y esclerozada, ligeramente protuberante; ápice del rostro romo.

Patas. Uñas tridáctilas. Fórmula de la quetotaxia de las patas I-IV (solenidios entre paréntesis). Fémur 4-4-2-2; genua 3(1)-3(1)-1(1)-2; Tibia 4(2)-4(1)-3(1)-3(1); Tarso 20(2)-15(2)-15-12.

Pata I (Fig. 27). Fémur L=77, A=30; genua L=38, A=13; tibia L=87, A=52; tarso L=159, A=37. Solenidio σ (155) anterior, dorsal; solenidio φl (242) muy largo, $\varphi 2$ (81) posterior, ambos dorsales. ωl (77) más corto que, $\omega 2$ (112). ε muy corto (5), ápice romo, posteriormente se encuentra ft''.

Pata II (Fig. 28). Fémur L=193, A=84; genua L=74, A=32; tibia L=81, A=44; tarso L=114, A=37. Solenidio σ (163) distal y dorsal, φ (176) dorsal. ωI y $\omega 2$ idénticos (54), ápices romos, seda *ft* anterior a ωI .

Pata III (Fig. 29). Fémur L=133, A=91; genua L=37, A=27, tibia L=121, A=42; tarso L=136, A=35. Solenidio σ (57) rígido, φ (151) dorsal, a la altura de la seda l'.

Pata IV (Fig. 30). Fémur L=172, A=84; genua L=74, A=25, tibia L=131, A=37; tarso L=160, A=30. Solenidio φ (131) en la región media de la tibia, sin pliegue cuticular.

Material tipo. Ejemplares en preparaciones semipermanentes. Holotipo 3° con los datos de colecta. 08/IV/2014, México, Veracruz, Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Suelo y Hojarasca, L. Villagomez, L. A. Martínez y A. D. Ruiz cols. 18°35'02.04'' N, 95°04'39.54'' W. 242 m snm. Cuatro paratipos con los mismos datos excepto 18/IV/2014, 1 9° y 3 3° , cuatro paratipos más con los mismos datos excepto 09/VI/2014. F. Villagomez col. 1 9° y 3 3° . Todo el material tipo ubicado en la Colección de Collembola de México y Ácaros Edáficos del Laboratorio de Ecología y Sistemática de Microartrópodos (LESM), Facultad de Ciencias, UNAM. Se integran también 15 ejemplares paratipos en alcohol en dicha colección.

Etimología. El nombre específico describe la similitud en la ornamentación cerotegumentaria con las impresiones dactilares humanas.

Discusión. Por el tipo de la ornamentación del prodorso y notogáster, esta especie posee una similitud con *Pergalumna striata* Pérez-Íñigo & Baggio, 1980 de Brasil, pero pueden diferenciarse por la presencia de 3 pares de áreas porosas notogástricas en lugar de cuatro y ser de casi el doble de tamaño que *P. striata* (400 – 440). Por el sensilo setiforme puede relacionarse con *Pergalumna decorata* Balogh & Mahunka, 1977 de Bolivia, la cual posee el área porosa *Aa* más cerca de *ti* que de *te*, mientras que en esta especie *Aa* se encuentra entre ambos casi a la misma distancia, además *in* es pequeña, pero no diminuta, y es una especie mucho más pequeña (637 – 653 de largo y 469 – 494 de ancho). También posee similitud con *P. decoratissima* Pérez-Íñigo & Baggio, 1986 la cual tiene el prodorso granulado y el resto del cuerpo ornamentado con estrías longitudinales, sin embargo *la* en esta especie es más del doble de largo que *ro*, además de tener la placa anal y genital ornamentadas de la misma manera, mientras que en *P. dactilaris* sp. nov. son subiguales las sedas *la y ro*, y las placas anales y genitales se encuentran ornamentadas con patrones diferentes, siendo la ornamentación escasa en la placa genital. Finalmente *P. paradecoratissima* Ermilov & Kalúz, 2012 de Ecuador se diferencia por poseer una proyección a manera de diente en cada lado del prodorso, la placa anal es completamente lisa y posee un área porosa postanal pequeña y oval. Sin embargo ninguna de estas especies posee la región lenticular más clara entre el prodorso y la base del notogáster como la especie presentada.

Pergalumna obsidiana sp. nov. (Figs. 31–42; Lám. 3)

Descripción. Medidas en µm (entre paréntesis las medidas promedio). Longitud (L=) y anchura (A=).

(N=7) Longitud 492 - 552 (522), anchura 355 - 394 (384), altura 360-371 (364). Color negro brillante.

Sensilo setiforme con barbulaciones unilaterales, cerotegumento densamente granulado en todo el cuerpo, refringente, otorgando un aspecto negro brillante. Todas las sedas prodorsales presentes; área porosa *A2* ausente; notogáster con 10 pares de alveolos; sutura dorsoseyugal interrumpida; lirifisura *iad* cerca de la placa anal; sin área porosa postanal; sin poro medio.

Prodorso (Fig. 31). Superficie fuertemente granulada y de apariencia verrugosa; Lineas L y S presentes, arqueadas y paralelas, fuertemente esclerosadas; área porosa Ad presente, pequeña y de forma oval (L=12, A=7); todas las sedas prodorsales (Fig. 34) setiformes y barbuladas. Seda *in* larga (110) de aspecto rígido, *la* de tamaño medio (88) y flexible, *ro* cerca de la cara ventral (56).

Sensilo (Fig. 34) setiforme, barbulado unilateralmente; barbulaciones crecientes de la base al ápice hasta la zona media, en donde vuelven a decrecer hasta la región terminal, sin inserción en forma de "S", mayor que las demás sedas prodorsales (122). Quelíceros (Fig. 37) (L=167, A=62) normales, región media ornamentada con puntuaciones; región dental esclerozada; seda *cha* (42) y *chb* (25) barbuladas.

Notogáster (Fig. 31). Granulado completamente y con aspecto de pequeñas verrugas (Fig. 38); cerotegumento con un patrón punteado por debajo de las verrugas en la región anterior rodeando *ti*; sedas notogástricas reducidas a alvelos, posición de alveolos y lirifísuras habitual en el grupo.

Áreas porosas (Fig. 31) *Aa* (L=25, A=10) alargada y de forma oval, horizontal; A1 (L=27, A=10) poco mayor que Aa y diagonal; A3 (L=12, A=10) más pequeñas y semicirculares.

Pteromorfos (Fig. 36) (L=230, A=180 en la región proximal, 160 en la media y 200 en la distal) bilobulados, cerotegumento granulado verrugoso en los bordes; zona central del cerotegumento punteado; muesca central presente y muy esclerozada, *ia* y *ta* en posición habitual.

Placa ventral (Fig. 32). Cerotegumento densamente granulado en toda la placa. Hipostoma (Fig. 35) (L=96, A=101) punteado y debilmente ornamentado, ápice bilobulado; seda h corta (11); sedas epimerales *1b*, *3a*, *4a y 3b* (13) presentes; sedas agenitales cortas (8), tres pares de sedas adanales (12) cerca de la placa anal; lirifisura *iad* en el márgen de la placa; sin área porosa postanal; placa genital (L=71, A=70) lisa con 6 sedas cortas (8) insertadas en fórmula de 2-4, con cuatro a cinco protuberancias muy evidentes entre las sedas, más evidente en vista lateral; placa anal (L=74, A=103) completamente granulada con dos pares de sedas cortas (8).

Región lateral (Fig. 33). Líneas L y S presentes muy esclerosadas, arqueadas y paralelas; *in* insertada cerca el margen de L, línea circumpedial gruesa y esclerozada; en la región rostral posee una proyección cuticular esclerozada y lisa dirigida hacia el frente, ápice del rostro curvado hacia dentro.

Patas. Todas las patas con granulación en la parte basal del fémur, uñas heterotridáctilas. Fórmula de la quetotaxia de las patas 1-IV (solenidios entre paréntesis). Fémur 4-4-2-2; genua 3(1)-3(1)-1(1)-2; Tibia 4(2)-4(1)-3(1)-3(1); Tarso 20(2)-15(2)-15-12.

Pata I (Fig. 39). Fémur L=103, A=49; genua L=47, A=20; tibia L=61, A=34; tarso L=98, A=24. Solenidio σ (126) dorsal, $\varphi 1$ (133), muy largo y medial, $\varphi 2$ (71) preapical, ambas dorsales. $\omega 1$ (57) anterior a todas las sedas tarsales, $\omega 2$ (70) posterior a ft''. Famulus (7) muy corto, ápice romo.

Pata II (Fig. 40). Fémur L=106, A=32; genua L=27, A=17; tibia L=49, A=24; tarso L=67, A=24. Solenidio σ (104) medial y dorsal, φ (81) ventral. Solenidios $\omega 1$ y $\omega 2$ idénticos (30), ápice romo; seda *ft* anterior a $\omega 1$.

Pata III (Fig. 41). Fémur L=74, A=52; genua L=20, A=17; tibia L=70, A=27; tarso L=84, A=20. Solenidio σ (37) rígido, φ (81) situado en una protuberancia, cerca del doble de σ .

Pata IV (Fig. 42). Fémur L=86, A=49; genua L=37, A=17; tibia L=81, A=20; tarso L=96, A=22. Solenidio φ (103) con un engrosamiento muy peculiar en la zona basal, inserción sin pliegue cuticular.

Material tipo. Ejemplares en preparaciones semipermanentes. Holotipo ♂ con los datos de colecta. 12/X/2012, México, Veracruz, Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Suelo y Hojarasca, L. Villagomez col. 18°35'02.04'' N, 95°04'39.54'' W. 242 m snm. Cinco

paratipos con los mismos datos, $1 \bigcirc y 4 \circlearrowleft$. Todo el material tipo ubicado en la Colección de Collembola de México y Ácaros Edáficos del Laboratorio de Ecología y Sistemática de Microartrópodos (LESM), Facultad de Ciencias, UNAM.

Etimología. El nombre específico "*obsidiana*" hace referencia al color y brillo de la especie similar a la piedra volcánica obsidiana.

Discusión. Esta especie posee un gran parecido con *P. granulosa* sp. nov. por la granulación cerotegumentaria, la forma y posición de las áreas porosas y el sensilo, sin embargo puede diferenciarse de ésta por la morfología de las placas genitales, la seda *in* situada en el margen de L, la presencia de una prolongación rostral esclerozada, el hipostoma bilobulado y una coloración oscura más intensa y brillante.

Taeniogalumna (Balogh, 1962)

Especie tipo Taeniogalumna sphaerula Balogh, 1962

Diagnosis genérica: Con Líneas prodorsales L, notogáster no foveolado; seda lamelar entre las líneas L; cuerpo esférico; región epimeral y ventral separadas por una línea transversal gruesa; lirifisuras adanales adyacentes a los márgenes de la placa genital (Balogh, 1958, 1960; Balogh y Balogh, 1992).

El presente estudio incluye los siguientes caracteres: Líneas *S* presentes o ausentes; cuerpo esférico o subesférico; con 2 ó 3 áreas porosas verdaderas; con 10 pares de alveolos; seda *ad3* de posición variable; patas tridáctilas.

Taeniogalumna tuxtlaensis sp. nov. (Figs. 43 – 54; Lám. 4)

Descripción. Medidas en µm (entre paréntesis las medidas promedio). Longitud (L=) y anchura (A=).

N=15. Longitud 254 - 296 (277), anchura 198 - 222 (210), altura (194). Color café a marrón rojizo, en ejemplares no macerados, presenta una zona más clara con un amarillo cobrizo de la sutura dorsoseyugal hacia el rostro.

Cuerpo de forma normal, no esférico; Línea *L* y *S* presentes, arqueadas y paralelas; sensilo fusiforme; todas las sedas prodorsales; tres pares de áreas porosas notogástricas; 10 pares de alveolos; sutura dorsoseyugal completa; con poro medio; con área porosa postanal; *iad* cerca de la placa anal; sin sedas o alveolos agenitales; cerotegumento punteado en todo el cuerpo.

Prodorso (Figs. 43 y 45). Cerotegumento punteado, líneas L y S presentes, muy cercanas entre sí, seda *in* diminuta (4) cerca del surco dorsoseyugal, *la* delgada (10), ligeramente más larga que *ro* (9), la cual es lisa y apical; *Ad* (L=5, A=4) pequeña y ovalada.

Sensilo (60) arqueado en la base (Fig. 46), tallo delgado, capítulo sensilar fusiforme, ensanchado gradualmente en la región apical y terminando en un adelgazamiento paulatino, completamente liso. Quelíceros normales (L=76, A=28) (Fig. 47), seda *cha* (28) y *chb* (17) barbuladas, ornamentación punteada en la región anterior y hasta la zona media.

Notogáster (Figs. 43). Cerotegumento punteado, ornamentación irregular entre *Aa* y *A1*; con 10 pares de alveolos, poro medio presente ubicado en la zona media del notogaster, a la altura de *A1*; áreas porosas semicirculares. *Aa* (L=6, A=6) lateralmente, situada en una estructura en forma de saco en la procutícula, mejor visto lateralmente; *A1* (L=6, A=6) en la distancia media entre r_2 y r_3 , A2 ausente, A3 (L=5, A=5) bajo r_1 .

Pteromorfos bilobulados (Fig. 48), (L=142, A=97 en la región proximal, 84 en la media y 109 en la distal) con ornamentación puntueada en toda la superficie; muesca central profusa, mejor vista en posición lateral; *ta* insertada en la zona media. Lirifisura *ia* muy anterior, cerca de la charnela.

Placa ventral (Fig. 44). Cerotegumento punteado, con sedas epimerales *1b*, *3a*, *4a* y *3b* (4); placa genital punteada (L=34, A=41), con seis pares de sedas genitales (4), en fórmula 3-3. Placa anal lisa (L=38, A=52), dos pares de sedas anales (4) cerca de los extremos; sin sedas agenitales ni sus alveolos; tres pares de sedas adanales cortas (4), ad1 y ad2 insertadas posteriormente a la placa anal, *ad3* lejos de la placa anal; lirifisura *iad* lateral a la placa anal; área porosa postanal en forma de listón (Fig. 50) de tamaño variable (L=16–23, A=4).

Hipostoma (Fig. 49). Sedas hipostomales (h) lisas (4), camerostoma con sedas m y a ligeramente más largas que h (5), or1 y or2 (3) cortas y lisas. Pedipalpos cortos; quetotaxia usual de Galumnidae.

Región lateral (Fig. 45). Sutura extra entre las líneas L de forma y posición similar a *Pilogalumna ornatula* Grandjean, 1956, por lo cual se conserva la misma nomenclatura sada por ese autor refiriéndola como una pseudolamela (*psl*), truncada en la zona intermedia del prodorso; seda *in* entre las líneas L y *psl*, línea circumpedial difusa saliendo de la región coxal IV; rostro redondeado.

Patas. Uñas tridáctilas. Fórmula de la quetotaxia de las patas 1-IV (solenidios entre paréntesis). Fémur 4-4-2-2; genua 3(1)-3(1)-1(1)-2; Tibia 4(2)-4(1)-3(1)-3(1); Tarso 20(2)-15(2)-15-12.

Pata I (Fig. 51). Fémur L=58, A=31; genua L=20, A=9; tibia L=33, A=20; tarso L=48, A=13. Solenidio σ (59) apical, φI (94) muy largo, $\varphi 2$ (31) posterior, ambos dorsales. Solenidio ωI (41) posterior a ft'', $\omega 2$ (28) solenidio más corto de la pata I, ε muy corto (3), ápice cuadrado.

Pata II (Fig. 52). Fémur L=61, A=31; genua L=16, A=12; tibia L=27, A=17; tarso L=38, A=14. Solenidio σ (41) apical y medial, φ (39) apical, ambos dorsales. ωI y $\omega 2$ idénticos (16), seda *ft* situada entre ωI y $\omega 2$.

Pata III (Fig. 53). Fémur L=40, A=25; genua L=11, A=10; tibia L=33, A=16; tarso L=39, A=13. Solenidio σ (22) rígido, φ (36) ligeramente más largo que la tibia.

Pata IV (Fig. 54). Fémur L=47, A=25; genua L=23; A=9; tibia L=42, A=14; tarso L=47, A=11. Solenidio φ (25) corto, situado en un pliegue cuticular.

Material tipo. Ejemplares en preparaciones semipermanentes. Holotipo \mathcal{J} con los datos de colecta. 12/X/2012, México, Veracruz, Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Suelo y Hojarasca, L. Villagomez col. 18°35'02.04'' N, 95°04'39.54'' W. 242 m snm. 16 paratipos con los mismos datos excepto 15/X/2012, 11 \mathcal{J} y 5 \mathcal{Q} . Material tipo depositado en la Colección de Collembola de México y Ácaros Edáficos del Laboratorio de Ecología y Sistemática de Microartrópodos (LESM), Facultad de Ciencias, UNAM. Se integran también 25 ejemplares paratipos en alcohol en dicha colección.

Etimología. El nombre específico "*tuxtlaensis*" es locativo a la localidad tipo llamada "Los Tuxtlas".

Discusión. Hasta el momento sólo se conocen tres especies de este género, todas de la región etiópica. *Taeniogalumna tuxtlaensis* sp. nov. es la única especie que posee área porosa postanal, pseudolamela y poro medio, además el sensilo es fusiforme y no posee sedas agenitales, ni siquiera como alveolos. Mientras que en *T. sphaerula* Balogh, 1962, *T. tanzanica* Mahunka, 1983 y *T. behanae* Ermilov, et al. 2010 el sensilo es setiforme, y todas poseen sedas agenitales.



Figuras 4-7 *Pergalumna granulosa* sp. nov. 4. Notogáster; 5. Placa ventral; 6. Prodorso; 7. Región lateral. Escala 50 μm.



Figuras 8-13 *Pergalumna granulosa* sp. nov.
8. Sedas prodorsales; 9. Hipostoma; 10. Quelícero; 11. Región posterior; 12. Cerotegumento; 13. Pteromorfo. Escala 20 µm.



Figuras 14-15 *Pergalumna granulosa* sp. nov. 14. Pata I izquierda del holotipo, vista antiaxial; 115. Pata II derecha del holotipo, vista paraxial. Escala 20 µm.



Figuras 16-17 *Pergalumna granulosa* sp. nov. 16. Pata III derecha del holotipo, vista paraxial; 17. Pata IV derecha del holotipo, vista paraxial. Escala 20 µm.



Figuras 18-21 *Pergalumna dactilaris* sp. nov. 18. Notogáster; 19. Placa ventral; 20. Prodorso; 21. Región lateral. Escala 50 μm.



Figuras 22-26 *Pergalumna dactilaris* sp. nov. 22. Sedas prodorsales; 23. Quelícero; 24. Hipostoma; 25. Región posterior; 26. Pteromorfo. Escala 50 μm.



Figuras 27-28 *Pergalumna dactilaris* sp. nov. 27. Pata I derecha del holotipo, vista antiaxial; 28. Pata II derecha del holotipo, vista antiaxial. Escala 20 µm.



Figuras 29-30 *Pergalumna dactilaris* sp. nov. 29. Pata III izquierda del holotipo, vista paraxial; 30. Pata IV izquierda del holotipo, vista paraxial. Escala 20 µm.



Figuras 31-34 Perg*alumna obsidiana* sp. nov. 31. Notogáster; 32. Placa ventral; 33. Región lateral; 34. Sedas prodorsales. Escala 50 μm.



Figuras 35-39 Perg*alumna obsidiana* sp. nov.
35. Hipostoma; 36. Pteromorfo; 37. Quelícero; 38. Cerotegumento;
39. Pata I derecha del holotipo, vista antiaxial. Escala 20 μm.



Figuras 40-42 *Pergalumna obsidiana* sp. nov.
40. Pata II izquierda del holotipo, vista paraxial; 41. Pata III derecha del holotipo, vista antiaxial; 42. Pata IV derecha del holotipo, vista antiaxial. Escala 20 μm.



Figuras 40-43 *Taeniogalumna tuxtlaensis* sp. nov. 43. Notogáster; 44. Placa ventral; 45. Región lateral; 46. Sedas prodorsales Escala 50 µm.



Figuras 44-48 *Taeniogalumna tuxtlaensis* sp. nov.
47. Quelícero; 48. Pteromorfo; 49. Hipostoma y palpo; 50. Región posterior; 51. Pata I derecha del holotipo, vista antiaxial.
Escala 20 µm.



Figuras 49-51 *Taeniogalumna tuxtlaensis* sp. nov.
52. Pata II izquierda del holotipo, vista paraxial; 53. Pata III derecha del holotipo, vista antiaxial; 54. Pata IV derecha del holotipo, vista antiaxial. Escala 20 μm.

Lámina 1

Pergalumna granulosa sp. nov. Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz, México.

- a. Vista dorsal, mostrando el prodorso y notogáster
- b. Vista ventral, mostrando la zona epimeral, placa genital, placa anal e hipostoma
- c. Vista frontal, mostrando las sedas prodorsales
- d. Vista lateral, mostrando las sedas prodorsales y líneas L y S
- e. Placa genital, mostrando una ornamentación estriada longitudinal
- f. Detalle de la morfología y ornamentación de la seda sensilar (ss) y la seda interlamelar (in)
- g. Detalle de la morfología y ornamentación de la seda lamelar

LÁMINA 1



Pergalumna dactilaris sp. nov. Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz, México

- a. Vista dorsal, mostrando el prodorso y notogáster. La flecha con tallo señala la ornamentación cerotegumentaria
- b. Vista ventral, mostrando la zona epimeral, placa genital, placa anal e hipostoma
- c. Vista frontal, mostrando las sedas prodorsales
- d. Vista lateral, mostrando las sedas prodorsales y líneas L
- e. Placa genital, mostrando una ligera estriación longitudinal
- f. Detalle de la ornamentación cerotegumentaria presente en todo el cuerpo
- g. Detalle del botridio y seda sensilar (ss)
LÁMINA 2



Pergalumna obsidiana sp. nov. Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz, México

- h. Vista dorsal, mostrando el prodorso y notogáster
- i. Vista ventral, mostrando la zona epimeral, placa genital, placa anal e hipostoma
- j. Vista frontal, mostrando las sedas prodorsales
- k. Vista lateral, mostrando las sedas prodorsales y las líneas L
- 1. Placa genital, las flechas sin tallo señalan una ornamentación única en esta especie
- m. Tibia de la pata IV, las flechas con tallo señalan un engrosamiento en el solenidio único en esta especie
- n. Detalle de la morfología y ornamentación de la seda sensilar (ss) y la interlamelar (in)

LÁMINA 3



Lámina 4

Taeniogalumna tuxtlaensis sp. nov. Estación de Biología Tropical Los Tuxtlas, Veracruz, México

- a. Vista dorsal, mostrando el prodorso y notogáster
- b. Vista ventral, mostrando la zona epimeral, placa genital, placa anal e hipostoma
- c. Vista frontal, mostrando las sedas prodorsales
- d. Vista lateral, mostrando las sedas prodorsales. Flecha sin tallo señala la pseudolamela
- e. Placa genital, mostrando un surco cóncavo en la parte anterior
- f. Detalle de la morfología de la seda sensilar (*ss*)
- g. Detalle de la vista lateral mostrando la reducción de la seda interlamelar (*in*) y la pseudolamela

LÁMINA 4



Sistemática molecular.

Se obtuvieron 12 secuencias de ácaros oribatidos de la familia Galumnidae para el marcador molecular COI, mismas que se alinearon junto con 50 secuencias obtenidas de la literatura por medio de Mesquite con MAFFT. Mediante el análisis de distancia de este marcador con el modelo de K80 obtenido en PAUP (Swofford, 2003), se observó la variación genética intraespecífica de las especies descritas en este trabajo. *T. tuxtlaensis* sp. nov. muestra una variación genética de apenas 0.3%, mientras que *P. dactilaris* sp. nov. posee una divergencia máxima de 2.46% entre sus secuencias; sin embargo, *P. granulosa* es la más variable de todas, ya que se encuentra en un rango del 1.69 al 6.02% de variación genética, evidenciando probablemente una gran plasticidad genética y una morfología muy conservada. La diferencia genética entre especies de géneros distintos generalmente se situó en el rango de 20 a 35%, el mismo comportamiento ocurre con secuencias pertenecientes a diferentes familias de ácaros oribátidos, por lo cual este marcador no es muy adecuado para inferir relaciones por encima del nivel de género.

Del análisis de máxima verosimilitud practicado a dichas secuencias con raxmlGUI (Fig. 55) se pudo observar que la familia Galumnidae aparece en más de cinco regiones separadas, siendo probablemente polifilética. Las secuencias generadas siempre se encontraron agrupadas con buenos soportes de bootstrap concordando con las identificaciones morfológicas, a excepción de la secuencia M515 perteneciente a *Pergalumna granulosa* sp. nov. Las relaciones entre los grupos por encima de nivel de especie se encuentran pobremente sustentadas, debido posiblemente al muestreo taxonómico.

El clado perteneciente a *Taeniogalumna tuxtlaensis* sp. nov., que se encuentra conformado por las secuencias M215 – M218, posee un soporte de bootstrap del 100%, indicando que esta agrupación muestra evidencia que favorece la hipótesis de que todas las secuencias pertenecen a la misma especie.

Las secuencias de galúmnidos no identificados a nivel génerico se encontraron en dos regiones del cladograma; un grupo conformado por G1, G2 y G4 obtuvo un soporte de bootstrap de 100%, mientras que *Acrogalumna longipluma* se relacionó con una secuencia de Galumnidae no identificada con un soporte muy bajo (49%).

Pergalumna es uno de los géneros más complicados dentro de la familia Galumnidae, ya que debido a que sus sinapomorfías son caracteres probablemente muy variables o bien ampliamente distribuidos dentro de la familia, es probable que el género no conforme un grupo natural; en este análisis se observa que las secuencias de *Pergalumna* se encuentran agrupadas en al menos 5 ramas distribuidas en diferentes posiciones del cladograma, soportando la idea de que el género probablemente no es un grupo monofilético, hasta que no se cuente con más información.

Pergalumna dactilaris sp. nov. conformado en un solo clado por las secuencias M614 – M617 tiene un soporte de bootstrap del 99%, lo cual indica que todas las secuencias pertenecen probabilísticamente al mismo clado, en este caso, a la misma especie. *Pergalumna granulosa* sp. nov. constituido por M515 – M518 posee un soporte para el clado del 96%, sin embargo, la secuencia M515 se encuentra como grupo hermano de todas las demás. El agrupamiento mencionado se encuentra conformado por M516, M517 y M518, el cual posee un soporte del 98%.

Es posible visualizar que las secuencias utilizadas a partir de la base de datos del GenBank presentaron un comportamiento similar, ya que las pertenecientes al género *Pergalumna* generaron varias agrupaciones bien sustentadas en diferentes posiciones del cladograma. Se obtuvo una agrupación con un soporte del 100% con las secuencias pertenecientes a *Pergalumna nervosa* y otras tres secuencias del género *Pergalumna* que no se encontraban identificadas a nivel específico (P5, P6 y P7), además de otro grupo con un soporte de 95% conformado por un par de secuencias de *Pergalumna* sp. (P8 y P1). Finalmente la agrupación de P3, P2 y P4 posee un soporte de bootstrap menor al 50% y por tanto la posición de cada una de estas secuencias es incierta y se comportan como taxa flotantes.

A partir del análisis bayesiano realizado con Mr. Bayes (Fig. 56) se obtuvieron los mismos agrupamientos. La probabilidad posterior de las ramas indica que los agrupamientos que aparecen en la figura 4 es alta, por lo cual podemos hablar de evidencia probabilística para delimitar a las agrupaciones obtenidas y soporte para las hipótesis de especies presentadas en este trabajo.

El grupo de *Taeniogalumna tuxtlaensis* sp. nov. se encontró sustentado por un 100% de probabilidad, al igual que el grupo de *Pergalumna dactilaris* sp. nov., mientras que las cuatro secuencias de *Pergalumna granulosa* sp. nov. mostraron un 99.98% de probabilidad de agrupación, y a su vez un 100% de probabilidad en la separación de M515 en relación a las otras tres secuencias de la misma especie, apareciendo como su grupo hermano.

Se recuperó el clado conformado por *Pergalumna nervosa* y tres especies no identificadas del género *Pergalumna* (Pn, P5, P6 y P7) con una probabilidad de 100%, además la relación de *Acrogalumna longipluma* con G3 se sustentó en un 96.64% y las secuencias de galúmnidos G1, G2 y G4 nuevamente se vieron agrupadas con un 100% de probabilidad.

Cinco secuencias de *Pergalumna* conformaron un grupo sustentado por un 98.79% de probabilidad, dentro de este clado se obtuvieron dos grupos, uno constituido por las secuencias P1 y P8 y con una probabilidad del 99.16% y el otro conformado por P2, P3 y P4 con una probabilidad de 99.56%. Este grupo no había sido obtenido directamente en el método anterior y posee un buen sustento probabilístico, denotando la probable presencia de dos especies en esta asociación.

Las relaciones de los grupos por encima del nivel de especie registraron generalmente una baja probabilidad, generando en la mayoría de las ocasiones asociaciones no resueltas denotadas por una politomía, debido probablemente a la falta de un mayor muestreo taxonómico, así como de la posible naturaleza artificial del género *Pergalumna*.

Se generó un árbol ultramétrico de máxima credibilidad de clados mediante BEAST con el modelo de sustitución HKY (Fig. 57), en donde se recuperaron exactamente las mismas asociaciones de ácaros galúmnidos que en el análisis bayesiano, lo cual refuerza la hipótesis propuesta sobre la probabilidad de los agrupamientos. Este tipo de árbol representa las variaciones en los pares de bases con relación a la longitud de las ramas, con lo cual, si pusiéramos como criterio que una especie posee una variación genética máxima del 3%, podríamos ver que al menos la secuencia M515, el grupo conformado por P1 y P8 en relación al grupo de P2, P3 y P4, junto con Ob y Ob1 y finalmente On3 con relación al grupo On, On1 y On2 son las únicas secuencias o grupos que podrían ser contempladas como especies diferentes, mientras que todos las secuencias de los demás grupos están sustentando las hipótesis propuestas, i.e., pertenecen a la misma especie.

Cambiando el modelo de sustitución por GTR+G+I se crearon las mismas agrupaciones pero con una longitud de ramas ligeramente diferente (Fig. 58), recuperando todos los grupos de los análisis anteriores, los cuales coinciden con las especies morfológicas descritas. La longitud de las ramas es de vital importancia en el proceso de delimitación de especies, ya que es el criterio básico para la separación de las mismas, y se encuentra ligada al modelo de sustitución y los parámetros que se utilicen. En este caso GTR+G+I es un modelo neutral aunque más complejo que HKY y generalmente obtienen mejores resultados en términos de mejor ajuste, sobre todo en análisis bayesianos, ya que difícilmente es afectado por la sobreparametrización (Huelsenback y Rannala, 2004; yang y Rannala, 2012).

En ambos procesos de delimitación (GMYC y bPTP) se obtuvieron resultados similares en cuanto a las hipótesis de delimitación de especies propuestas, al generar las mismas agrupaciones de Galumnidae pero con diferentes relaciones a niveles superiores a especie. *Pilogalumna granulosa* sp. nov. fue separado en dos especies en todos los casos con el método de GMYC, tanto con el modelo de sustitución HKY (Fig 59) como GTR+G+I (Fig. 60). Generalmente los mismos resultados en las hipótesis con GMYC se repiten con el método bPTP, tanto con el análisis de máxima verosimilitud como con el análisis bayesiano, sin distinguir entre los modelos HKY (Figs. 61 y 62) y GTR+G+I (Figs. 63 y64).

Cabe destacar que en bPTP con el modelo de GTR+G+I tanto por análisis de probabilidades bayesianas como por máxima verosimilitud obteniendo exactamente las mismas relaciones, lo que nos otorga una mayor certidumbre acerca de las agrupaciones

generadas con este modelo de sustitución, contando con soportes de boostrap y probabilidades posteriores bayesianas altas en la mayoría de los casos.

Esto se puede atribuir a la distancia genética que presentan algunas secuencias; por ejemplo, M515 posee una distancia genética de 5 a 6% de acuerdo con el análisis de distancia en PAUP con relación a los otros individuos de la misma especie morfológica (M515,M516=0.050; M515,M517=0.056; M515,M518=0.060), siendo lo común que los individuos de la misma especie no sobrepasen el 2% de distancia genética (Young et al. 2012). Por otra parte, la secuencia M615 posee una distancia genética de 1.3 a 2.4% con relación a las demás secuencias de la misma especie (M615,M614=.024; M615,M616=.013; M615,M617=.015), y fue separada de las demás secuencias de la especie con el análisis bayesiano de bPTP con el modelo de sustitución HKY (Fig. 61). Sin embargo esta separación se encuentra sustentada por una diferencia genética inferior al 3% en las secuencias M615 con M614, y tiene un escaso sustento probabilístico (56%), mientras que esta secuencia (M615) ha presentado altos valores si se le considera de la misma especie por bPTP con el modelo GTR+G+I, tanto por análisis bayesianos como por máxima verosimilitud (Cuadro 5), por lo que la hipótesis de separación de especies está siendo directamente afectada por el modelo de sustitución, que en este caso, con el modelo HKY probablemente ha generado un falso negativo, ya que el grupo presenta un buen sustento probabilístico con los otros métodos empleados y coincide perfectamente con las determinaciones morfológicas, sin embargo este error pudo haber sido promovido por la calidad de dicha secuencia.

Podemos apreciar la existencia de al menos 9 especies de galúmnidos bien delimitadas, mismas que fueron recuperadas en casi todos los análisis mencionados. Por medio del análisis de bPTP se observa que dichas hipótesis de especies cuentan con un buen soporte, generalmente por encima del 97% con el modelo GTR+G+I y por encima del 50% con HKY, ya sea por máxima verosimilitud (ML) o bien por probabilidades bayesianas (BS) (Cuadro 5).

Las secuencias de M614-M617 pertenecientes a *Pergalumna dactilaris* sp. nov. se encuentran agrupadas en el modelo GTR+G+I en una sola especie, éstas poseen 13 caracteres diagnósticos y 96 simplesiomorfías de acuerdo al análisis en el alineamiento de MAFFT con el programa CAOS (Cuadro 6), posee un 95% de probabilidad posterior y bootstrap como soporte de este clado. Las secuencias M215-M218 pertenecientes a *Taeniogalumna tuxtlaensis* sp. nov. poseen 4 caracteres diagnósticos y 26 simplesiomorfías que soportan el clado, cuentan con 100% de soporte de boostrap y probabilidad posterior, indicando que estos grupos poseen un soporte muy alto tanto por los resultados moleculares como morfológicas, apoyando las hipótesis de la conformación de estos nuevos clados.

Esto se correlaciona con las determinaciones morfológicas de las especies descritas anteriormente en este trabajo, a excepción de la secuencia M515 que posee una diferencia

genética notable. De acuerdo al análisis de CAOS, podemos observar que esta secuencia se separa por la presencia de 29 caracteres diagnósticos o autopomorfías (Cuadro 6) con una certidumbre del 100%, mientras que las secuencias M516-M518 que se encuentran agrupadas en la misma especie (*Pergalumna granulosa* sp. nov.) no poseen ningún carácter diagnóstico y 27 simplesiomorfías, sin embargo cuenta con un soporte del 99% de probabilidad tanto por probabilidades posteriores como bootstrap, lo cual podría indicar el origen de una nueva especie a partir de caracteres derivados del ancestro M516-M518 y M515, o incluso la presencia de una población en proceso de especiación.

Debido a que en la determinación morfológica el individuo M515 no presentó caracteres morfológicos variantes de ningún tipo con respecto a los demás, su cercanía geográfica a los demás ejemplares, el mismo microhábitat y la misma distribución temporal, se ha convenido otorgarle la categoría *cf*. (confer) a la especie *Pergalumna granulosa* sp. nov.

Cuadro 5. Grupos de ácaros galúmnidos recuperados mediante GMYC y bPTP. Cada uno de estos grupos se trata de una hipótesis de un agrupamiento de nivel específico (* hipótesis con escaso soporte probabilístico).

Especie	Secuencias	Modelo sustitución	Análisis	Soporte	
		GTR+G+I	ML	0.947	
Pergalumna dactilaris	M614, <mark>M615*</mark> ,	GTR+G+I	BS	0.947	
sp. nov.	M616 y M617	HKY	ML	0.435	
		HKY	BS	*0.565 , 0.405	
		GTR+G+I	ML	1.00	
Taeniogalumna	M215 – M218	GTR+G+I	BS	1.00	
<i>tuxtlaensis</i> sp. nov.		HKY	ML	0.991	
		НКҮ	BS	0.991	
		GTR+G+I	ML	1.00	
Pergalumna cf.	M515	GTR+G+I	BS	1.00	
granulosa sp. nov.		НКҮ	ML	1.00	
		НКҮ	BS	1.00	
		GTR+G+I	ML	0.986	
Pergalumna granulosa	M516 – M518	GTR+G+I	BS	0.986	
sp. nov.		HKY	ML	0.627	
		НКҮ	BS	0.627	
Pergalumna nervosa		GTR+G+I	ML	0.976	
	Pn, P5 – P7	GTR+G+I	BS	0.976	
		HKY	ML	0.546	
		НКҮ	BS	0.546	
		GTR+G+I	ML	1.00	
<i>Pergalumna</i> sp. 1	P1 y P8	GTR+G+I	BS	1.00	
		НКҮ	ML	0.994	
		HKY	BS	0.994	
		GTR+G+I	ML	0.374, 0.655 y 0.374	
Pergalumna	P2*, P3* y P4*	GTR+G+I	BS	0.374, 0.655 y 0.374	
sp. 2*		НКҮ	ML	0.908, 0.998 y 0.908	
(P. sp. 2, sp. 3 y sp. 4?)		НКҮ	BS	0.908, 0.998 y 0.908	
Galumnidae sp. 1		GTR+G+I	ML	0.993	
	G1, G2 y G4	GTR+G+I	BS	0.993	
		НКҮ	ML	0.810	
		HKY	BS	0.810	
Galumnidae sp. 2	G3	GTR+G+I	ML	1.00	
		GTR+G+I	BS	1.00	
		НКҮ	ML	1.00	
		НКҮ	BS	1.00	
		GTR+G+I	ML	1.00	
Acrogalumna	Al	GTR+G+I	BS	1.00	
longipluma		НКҮ	ML	1.00	
		HKY	BS	1.00	

Grupo	Especie	Número	Número	Posición	Estado de
		CD	SYM	CD	caracter
M215-M218	Taeniogalumna	4	26	4; 204;	A; G;
	<i>tuxtlaensis</i> sp.			282; 505	G;G
	nov.				
M614-M617	Pergalumna	13	96	16; 36;	A; G;
	<i>dactilaris</i> sp.			141; 288;	A; C;
	nov.			306; 473;	A; C;
				477; 480;	A; A;
				488; 521;	A;A;
				641; 645;	G; C;
				647	Α
M515	cf. Pergalumna	29	0	1; 26;	A; A;
	<i>granulosa</i> sp.			59; 72;	T;T;
	nov.			81; 84;	C; G;
				201; 210;	G; A;
				268; 270;	C; G;
				330; 336;	G; G;
				388; 390;	C; G;
				404; 406;	C; T;
				418; 436;	A; T;
				442; 460;	C; C;
				469; 487;	G;T;
				503; 541;	T; A;
				574; 622;	T; T;
				640; 656;	A;T;
				659	G
M516-M518	Pergalumna	0	27	NA	NA
	<i>granulosa</i> sp.				
	nov.				
M515-M518	Pergalumna	14	93	36; 50;	A; A;
	<i>granulosa</i> sp.			102; 123;	G;T;
	nov.			141; 162;	C; G;
				207; 273;	C; A;
				279; 294;	A;C;
				297; 439;	A; G;
				481; 595	A; C

Cuadro 6. Caracteres diagnósticos obtenidos por medio del análisis realizado al alineamiento de 62 secuencias con MAFFT mediante el programa Character Attribute Organization System (CAOS). Abreviaturas. CD= Caracteres diagnósticos; SYM= simplesiomorfías.



Figura 55. Árbol de máxima credibilidad de clados inferido del análisis de Máxima verosimilitud en raxmlGUI. Resultados de bootstrap se muestran encima de las ramas, los resultados inferiores al 70% fueron excluidos. La sombra azul representa los individuos pertenecientes a la familia Galumnidae. La sombra verde refiere las hipótesis de especies dentro de Galumnidae generadas en este trabajo.



Figura 56. Árbol de consenso de mayoría inferido del análisis bayesiano en Mr. Bayes. Probabilidades posteriores bayesianas se muestran encima de las ramas, los resultados inferiores al 70% fueron excluidos. La sombra azul representa los individuos pertenecientes a la familia Galumnidae. La sombra verde refiere las hipótesis de especies dentro de Galumnidae generadas en este trabajo.



Figura 57. Árbol de máxima credibilidad de clados inferido del análisis bayesiano en BEAST con el modelo de sustitución HKY. Probabilidades posteriores bayesianas se muestran encima de las ramas, los resultados inferiores al 70% fueron excluidos. La sombra azul representa los individuos pertenecientes a la familia Galumnidae. La sombra verde refiere las hipótesis de especies dentro de Galumnidae generadas en este trabajo.



Figura 58. Árbol de máxima credibilidad de clados inferido del análisis bayesiano en BEAST con el modelo de sustitución GTR+G+I. Probabilidades posteriores bayesianas se muestran encima de las ramas, los resultados inferiores al 70% fueron excluidos. La sombra azul representa los individuos pertenecientes a la familia Galumnidae. La sombra verde refiere las hipótesis de especies dentro de Galumnidae generadas en este trabajo.



Figura 59. Árbol ultramétrico inferido en BEAST con el modelo de sustitución HKY analizado con el método de delimitación de especies GMYC basado en máxima verosimilitud. Las líneas rojas indican la correlación de más de dos secuencias a una misma especie en base al árbol de genes. La sombra azul representa los individuos pertenecientes a la familia Galumnidae. La sombra verde refiere las hipótesis de especies dentro de Galumnidae generadas en este trabajo.



Figura 60. Árbol ultramétrico inferido en BEAST con el modelo de sustitución GTR+G+I analizado con el método de delimitación de especies GMYC basado en máxima verosimilitud. Las líneas rojas indican la correlación de más de dos secuencias a una misma especie en base al árbol de genes. La sombra azul representa los individuos pertenecientes a la familia Galumnidae. La sombra verde refiere las hipótesis de especies dentro de Galumnidae generadas en este trabajo.



Figura 61. Árbol ultramétrico inferido en BEAST con el modelo de sustitución HKY analizado con el método de delimitación de especies bPTP con probabilidades bayesianas. Encima de las ramas se muestran las probabilidades posteriores bayesianas. Las líneas rojas indican la correlación de más de dos secuencias a una misma especie en base a las probabilidades del árbol de genes. La sombra azul representa los individuos pertenecientes a la familia Galumnidae. La sombra verde refiere las hipótesis de especies dentro de Galumnidae generadas en este trabajo.



Figura 62. Árbol ultramétrico inferido en BEAST con el modelo de sustitución HKY analizado con el método de delimitación de especies bPTP con máxima verosimilitud. Encima de las ramas se muestran los resultados de Bootstrap. Las líneas rojas indican la correlación de más de dos secuencias a una misma especie en base a las probabilidades del árbol de genes. La sombra azul representa los individuos pertenecientes a la familia Galumnidae. La sombra verde refiere las hipótesis de especies dentro de Galumnidae generadas en este trabajo.



Figura 63. Árbol ultramétrico inferido en BEAST con el modelo de sustitución GTR+G+I analizado con el método de delimitación de especies bPTP con probabilidades bayesianas. Encima de las ramas se muestran las probabilidades posteriores bayesianas. Las líneas rojas indican la correlación de más de dos secuencias a una misma especie en base a las probabilidades del árbol de genes. La sombra azul representa los individuos pertenecientes a la familia Galumnidae. La sombra verde refiere las hipótesis de especies dentro de Galumnidae generadas en este trabajo.



Figura 64. Árbol ultramétrico inferido en BEAST con el modelo de sustitución GTR+G+I analizado con el método de delimitación de especies bPTP con máxima verosimilitud. Encima de las ramas se muestran los resultados de Bootstrap. Las líneas rojas indican la correlación de más de dos secuencias a una misma especie en base a las probabilidades del árbol de genes. La sombra azul representa los individuos pertenecientes a la familia Galumnidae. La sombra verde refiere las hipótesis de especies dentro de Galumnidae generadas en este trabajo.

Conclusión

En México existen escasos trabajos referentes al conocimiento de la acarofauna, encontrándose un sesgo hacia los ácaros parásitos y las garrapatas (Hoffman y López-Campos, 2000; Pérez et al., 2014). De tal forma que los ácaros del suelo y más aún los ácaros oribátidos han sido escasamente trabajados en nuestro país y hasta el momento nadie se había dedicado formalmente al estudio de la fauna de ácaros oribátidos de la familia Galumnidae.

Este es el primer trabajo en nuestro país en el que además de realizarse la identificación y descripción de cinco nuevas especies de Galumnidae, se efectuó la caracterización molecular de los marcadores 18S rRNA y COI para la mayoría de éstos, y con COI se realizaron estudios de identificación y delimitación de especies, con énfasis en el género *Pergalumna*.

La intención de los biólogos evolutivos es analizar los procesos de especiación con base en diferentes tipos de información, la que en muchas ocasiones se traduce en patrones de variación observable o medible, tales como variaciones morfológicas, ecológicas, fisiológicas, conductuales o bien patrones moleculares por mencionar algunos. Sin embargo cada uno de estos atributos puede verse afectado de diferente manera por las fuerzas evolutivas en las poblaciones naturales, de tal forma que cada atributo contará una historia propia y en ocasiones independiente de otro atributo.

Esto mismo ocurre incluso a nivel genético, ya que cada marcador, secuencia codificante o no codificante, posee su propia historia evolutiva y tendrá diferentes propiedades ligadas a las mutaciones permisibles que pueden sufrir sin llegar a ser deletéreas para los organismos. Cada marcador posee una tasa de evolución propia, ligada muchas veces a su funcionalidad biológica. Por ejemplo se ha visto que en algunas especies la tasa de evolución del marcador ITS-2 es 2.5 más veloz que COI, e incluso este último puede llegar a diferir en poco más del 5% entre poblaciones de la misma especie (Navajas et al. 1998).

En el presente trabajo se observó que dentro de la misma especie puede haber una variación genética de hasta 3% o incluso de 6%, mientras que las diferencias en niveles superiores suele ser mayor al 20%. La variación de un solo marcador también puede ser indicativo de una retención de un polimorfismo ancestral, o bien de una gran capacidad de colonización y aislamiento por parte de las poblaciones, siendo importante contrastar este tipo de información con los caracteres morfológicos para poder realizar una delimitación correcta en un grupo tan diverso como el de los ácaros edáficos.

En este trabajo fue posible analizar un fenómeno similar en una zona mucho más pequeña, ya que en dos localidades relativamente cercanas, se encontró una variación genética en una

de las especies descritas de 5 al 6% en el marcador COI, sin que esto se correlacionara en forma alguna con los caracteres morfológicos. Con base en estos resutados se infiere la existencia de una especie críptica, sin embargo, se ha visto que dentro de la misma especie, las diferentes poblaciones pueden tener una plasticidad genética muy grande, por lo que esta información debe tomarse con ciertas reservas (Navajas et al. 1998).

Morfológicamente los ejemplares de ambas poblaciones son muy similares y entran perfectamente en un rango corto de variación morfológica intraespecífica, en la que los atributos variables son únicamente alométricos. Sin embargo, faltarían más estudios y observaciones sobre su alimentación, reproducción, conducta, e incluso análisis químicos de los compuestos que secretan (Heethoff, et al. 2011) para poder conjuntar todas estas evidencias y poder realizar una delimitación de especies más adecuada.

En los análisis de las secuencias, el modelo de GTR+G+I mostró mejores resultados en la agrupación de los ácaros galúmnidos, siendo en todos los casos superior al 95% de probabilidad, excepto en las secuencias P2-P4, en donde las relaciones se encuentran pobremente sustentadas.

Es evidente que la selección de los parámetros y el modelo de sustitución afectan considerablemente los resultados, ya que el modelo HKY obtuvo resultados pobremente sustentados con relación a las secuencias M614-M617 y las secuencias Pn, P5-P7; sin embargo, las secuencias P2-P4 presentaron un fuerte sustento en la separación de éstas como especies diferentes. Estos datos no pueden corroborarse ya que son secuencias producidas por otros autores y no conocemos el proceso de edición que llevaron las mismas, además fueron realizadas con métodos de extracción destructivos y por personas no especialistas en morfología de Galumnidae, por tanto no es posible realizar una hipótesis de las relaciones de estos individuos por la falta de evidencia.

Tanto las secuencias del género *Pergalumna* como de la familia Galumnidae no conforman un grupo monofilético de acuerdo con nuestros análisis. Sin embargo, para poder sustentar esta hipótesis hace falta incrementar el muestreo taxonómico incluyendo secuencias de otros géneros de Galumnidae, e incluso de familias cercanas, como Galumnellidae, Parakalummidae y Epactozetidae.

De las agrupaciones en clados obtenidas por métodos bayesianos, máxima verosimilitud y bPTP junto con GMYC, todas las secuencias agrupadas concuerdan con las especies morfológicas descritas en el apartado anterior, con la excepción de la secuencia M515.

Cabe destacar que la secuencia M515 proviene de un ejemplar de la localidad Playa Escondida, mientras que los otros tres ejemplares provienen de la estación de Los Tuxtlas y la Laguna Escondida respectivamente, localidades relativamente más cercanas entre sí (Fig. 3). Por lo que podemos inferir que esta diferencia genética puede deberse a un proceso de aislamiento poblacional, que a su vez, se encontró más acentuado en las últimas décadas por la tala de vegetación natural y la creación de potreros con fines ganaderos. Dicha actividad se inició poco después de la conquista española (1525 d.C) y se incrementó drásticamente a partir de 1950 hasta la actualidad con el desarrollo de ranchos privados (Guevara et al. 1997), ocasionando la fragmentación de la vegetación natural y las poblaciones animales asociadas a ellas, limitando así su tamaño poblacional, su dispersión, y su recambio poblacional.

Estos factores suscitan ciertos problemas de variabilidad genética, ya la generación de parches ecosistémicos promueven la disminución del número de individuos, y con esto, el acervo genético de la misma, lo que incrementa el proceso de deriva génica y limita la supervivencia de las especies a su capacidad de dispersión (vagilidad).

Sería un tanto arbitrario hablar de una especie diferente o críptica con relación a la secuencia M515 de *Pergalumna granulosa* sp. nov., ya que morfológicamente posee las mismas características de los otros ejemplares, incluyendo coloración, tamaño, presencia de lamelas reducidas, posición de *la*, granulación cerotegumentaria y forma de la placa genital; pero al poseer una diferencia genética tan amplia con relación a las otras secuencias de la misma especie y de otras localidades, éste aparece como grupo hermano de las otras tres secuencias en la mayoría de los análisis realizados, sugiriendo la separación en dos especies o linajes.

Sin embargo se ha visto que la misma especie puede tener una variación genética del marcador COI de aproximadamente 5% tal y como lo reportó Navajas et al. (1998) en su trabajo con la especie *Tetranychus urticae*, por esta misma razón, a reserva de un incremento en nuestros datos y nueva información que nos ayude a determinar la posición de este grupo, la secuencia M515 posee la categoría *confer* (*cf.*) a la especie *Pergalumna granulosa* sp. nov., siendo un posible caso de polimorfismo genético no ligado a plasticidad morfológica.

Podemos concluir que la sistemática molecular es una herramienta muy útil para el apoyo de diversos tipos de información, desde dataciones de ancestros comunes mediante relojes moleculares, hipótesis filogenéticas e incluso sustento para delimitaciones a nivel de especies, sin embargo, (exceptuando casos de especies crípticas) la taxonomía morfológica y tradicional, es una de las herramientas más empleadas para la identificación de especies, ya que la posesión de autopomorfías entre individuos de diferentes poblaciones, es una nota indicativa de que ambos linajes pudieron haber presentado una historia evolutiva propia y con esto poseer además de las diferencias morfológicas apreciables, diferencias genéticas, fisiológicas, conductuales y reproductivas, indicando con esto un proceso de especiación.

De tal forma que la información genética puede ser utilizada para validar las determinaciones morfológicas generadas a partir del estudio detallado de los caracteres

fenotípicos, y no como un medio de información independiente y contrastante; en este caso pudimos observar que el marcador mitocondrial COI es un buen indicador de divergencia específica en la mayoría de los casos, aunque su resolución puede verse mermada por la historia evolutiva de algunas especies con metapoblaciones fragmentadas y aisladas como en el caso de *Pergalumna granulosa* sp. nov.

Referencias:

Akaike H., 1973. Information theory and an extension of the maximum likelihood principle, En: Petrov, B.N.; Csáki, F., 2nd International Symposium on Information Theory, Tsahkadsor, Armenia, USSR, September 2-8, 1971, Budapest: Akadémiai Kiadó, Pp. 267-281.

Arango-Galván A., L.Q. Cutz-Pool y Z. Cano-Santana. 2007. Estructura de la comunidad de colémbolos del mantillo de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel: Riqueza, composición y abundancia relativa. Entomología Mexicana 6: 397-400.

Avanzati A.M., M. Baratti y F. Bernini.1994. Molecular and morphological differentiation between stegnacarid mites (Acari: Oribatida) from the Canary islands. Biological Journal of the Linnean Society.52: 325-340.

Balogh J. 1958. Oribatides nouvelles de l'Afrique tropicale. Revue de Zoologie et de Botanique Africaines 58(1-2): 1–34.

Balogh J. 1960. Oribates (Acari) nouveaux d'Angola et du Congo Belge (2nd serie). Publicaçãos Culturais Companhia de Diamantes de Angola, Lisboa 51: 15–40.

Balogh J. 1962. Mission zoologique de l'I.R.S.A.C. en Afrique orientale. (P. BASILEWSKY et N. LELEUP, 1957) LXXV. Acari Oribates. Annales de Museé Royal de l'Afrique Centrale. 110: 90-131.

Balogh J. y P. Balogh. 1990. Identification key to the genera of the Galumnidae Jacot, 1925 (Acari: Oribatei). Acta Zoologica Hungarica. 36 (1-2): 1-23.

Balogh J.y P. Balogh. 1992. The oribatid mitesgenera of the world. Vol. 1. Hungarian National Museum Press, Budapest. 263 pp.

Balogh J. y P. Balogh. 2002. Identification keys to the Oribatid mites of the Extra-Holartic regions. Well. Press Publ., Ltd., Budapest. Volume 1. 451pp.

Balogh J. y Mahunka, 1967. New oribatids (Acari) from Vietnam. Acta Zoologica Academiae Scientarum Hungaricae. 13(1-2): 39-74.

Balogh J. y Mahunka, 1977. New data to the knowledge of the oribatid fauna of Neogea (Acari). I. Acta Zoologica Academiae Scientarum Hungaricae. 23(1-2): 1-28.

Banerjee S. y K. Sanyal. 1991. Oribatid mites as bioindicator of soil organic matter. In: Advances in Management and Conservation of Soil Fauna. Veeresh G.K., D. Rajagopal y C.A. Viraktamath (Eds). Oxford and IBH Publishing Co. New Dehli. pp. 887-880.

Baran S. y N. Ayyildiz. 2000. Systematic studies on *Rhysotritia ardua* (C.L. Koch) (Acari, Oribatida) in Erzincan and Erzurum Plains. Turkish Journal of Zoology. 24: 231-236.

Blanco-Becerril M.A. 2009. Estructura trófica de la comunidad de artrópodos asociados a *Muhlenbergia robusta* en la reserva ecológica del pedregal de San Ángel. Tesis de Licenciatura. Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. pp. 48.

Cano-Santana Z., L. Pisanty, S. Segura, P.E. Mendoza-Hernández, R. León-Rico, J. Soberón, E. Tovar, E. Martínez-Romero, L.E. Ruiz y A. Martínez-Ballesté. 2006. Ecología, conservación, restauración y manejo de las áreas naturales y protegidas del Pedregal del Xitle. En: Oyama K. y Castillo A. (eds.). Manejo, Conservación y Restauración de Recursos Naturales en México. Universidad Nacional Autónoma de México y Siglo XXI, México. Pp. 206-226. ISBN 968-23-2649-4.

Carstens B.C., T.A. Pelletier, N.M. Reid y J.D. Satler. 2013. How to fail at species delimitation. Molecular Ecology. 22: 4369-4383.

Castillo-Argüero S., G. Montes-Cartas, M.A. Romero-Romero, Y. Martínez-Orea, P. Guadarrama-Chávez, I. Sánchez-Gallen y O. Núñez-Castillo. 2004. Dinámica y conservación de la flora del matorral xerófilo de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel. México. D.F. Boletín de la Sociedad Botánica de México 74:51-75.

Chávez C. y G. Ceballos. 1994. Historia natural comparada de los pequeños mamíferos de la reserva El Pedregal. En: Reserva Ecológica El Pedregal de San Ángel: Ecología, Historia natural y Manejo (A. Rojo, Ed.). Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. Pp. 229-238.

Covarrubias R. 2008. Grado de asociación entre plantas estructuradoras de suelo y Microartrópodos edáficos, en especies con repartición latitudinal amplia. Avances de Investigación. Santiago. 20: 142.432.

Dabert M., W. Witalinski, A. Kazmierski, Z. Olszanowski y J. Dabert. 2010. Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): Strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. Molecular Phylogenetics and Evolution. 56: 222-241.

De la Fuente R. 2005. Acuerdo por el que se rezonifica, delimita e incrementa la zona de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria. Gaceta UNAM, Universidad Nacional Autónoma de México 3813(14-15): 22-23.

De Queiroz K. 1998. The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: A conceptual unification nd terminological recommendations. En: Endless forms: Species and speciation (D.J. Howrd, and S.H. Berlocher, eds.). Oxford University Press, Nw York. Pp 57-75.

De Queiroz K. 2007. Species concepts and species delimitation.Systematic Biology.56(6): 879-886.

Dirzo R., E. Gónzalez-Soriano y R.C. Vogt. 1997. Introducción general. En: Historia Natural de los Tuxtlas (E. Gónzalez-Soriano, R. Dirzo y R.C. Vogt, Eds.). Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. Pp. 3-6.

Dobson S.J. y S.C. Barker. 1999. Phylogeny of the hard ticks (Ixodidae) inferred from 18S rRNA indicates that the Genus Aponomma is Parapgyletic. Molecular Phylogenetics and Evolution. 11: 288-295.

Domes K., M. Althammer, R.A. Norton, S. Scheu y M. Maraun. 2007. The phylogenetic relationship between Astigmata and Oribatida (Acari) as indicated by molecular markers. Experimental and Applied Acarology. 42: 159-171.

Drummond A.J. y A. Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. BMC Evolutionary Biology.7, 214.

Drummond A.J., M.A. Suchard, D. Xie y A. Rambaut. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUTi and the BEAST 1.7. Molecular Biology and Evolution. 29: 1969-1973.

Ence D.D. y B.C. Carstens. 2010. SpedeSTEM: a rapid and accurate method for species delimitation.Molecular Ecology Resources. 11: 473-480.

Engelbrecht C. 1972. South African species of the genus *Trichogalumna* Balogh, 1961 (Galumnidae: Oribatei). Acarologia. 14(2): 268-280.

Ermilov S.G., O. Alvarado-Rodríguez y A.P. Retana-Salazar. 2014. Two new species of *Pergalumna* (Acari, Oribatida, Galumnidae) from Costa Rica, including a key to all species of the genus from the Neotropical Region. ZooKeys.435: 7-23.

Ermilov S.G. y S. Kaluz. 2012. Four new species of the superfamily Galumnoidea (Acari: Oribatida) from Ecuador. Zootaxa. 3481: 27-38.

Ermilov S.G., J. Starý, D. Sandmann, F. Marian y M. Maraun. 2013. New taxa and new records of oribatids mites of the family Galumnidae (Acari: Oribatida) from Ecuador.

Ermilov S.G., E.A. Sidorchuk y L.B. Rybalov. 2010. New species of oribatid mites of the superfamily Galumnoidea (Acari: Oribatida) form Ethiopia. Zootaxa. 2646: 43-62.

Folmer O., M. Black, W. Hoeh y R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. 3(5): 294-299.

Fujisawa T. y T.G. Barraclough.2013. Delimiting species using Single-locus data and Gerenalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) approach: A revised method and evaluationon simulated datasets.Systematic Biology.DOI: 10.1093.

Gao Y., Y. Bu y J.G. Palacios-Vargas. 2012. Two new species of *Vitronura* (Collembola: Neanuridae) from Shangai, Eastern China, with DNA barcodes. Florida Entomologist. 95(4): 1142-1153.

Grandjean F. 1953. Essai de classification des oribatides (Acariens). Bulletin de la Société Zoologique de France. 78: 421-446.

Grandjean F. 1969. Considérations sur le classement des Oribatides. Leur división en 6 groupes majeurs. Acarologia. 11:127-153.

Guevara S., J. Laborde, D. Liesenfield y O. Barrera. 1997. Potreros y ganadería. En: Historia Natural de los Tuxtlas (E. Gónzalez-Soriano, R. Dirzo y R.C. Vogt, eds.). Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. Pp. 43-58.

Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series. 41: 95-98.

Hammer M. 1961. Investigations on the oribatid fauna of the Andes Mountains. II. Perú. Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskab Biologiske Skrifter. 13(1): 1-157.

Hasegawa M., H. Kishino y T. Yano. 1985. Dating the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. Journal of Molecular Evolution. 22: 160-174.

Hebert P.D., A. Cywinska, S.L. Ball y J.R. de Waard. 2003. Biological identifications through DNA Barcodes. Proceeding of the Royal Society B: Biologcal Sciences. 270(1512): 313-321.

Heethoff M., M. Laumann, G. Weigmann y G. Raspotnig. 2011. Integrative taxonomy: Combining morphological, molecular and chemical data for species delineation in the partenogenetic Trhypochthonius tectorum complex (Acari, Oribatida, Trhypochthoniidae). Frontiers in Zoology. 8:2. doi:10.1186/1742-9994-8-2.

Hendrixson B.E., B.M. DeRussy, C.A. Hamilton y J.E. Bond. 2013. An exploration of species boundaries in turret-building tarantulas of the Mojave Desert (Araneae,

Mygalomorphae, Theraphosidae, *Aphonopelma*). Molecular Phylogenetics and Evolution. 66: 327-340.

Herrera T., E. Pérez-Silva y V.H. Valenzuela. 2006. Nueva contribución al conocimiento de los macromicetos de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel, D.F. México. Revista Mexicana de Biodiversidad. 77: 51-57.

Hoffmann A. y G. López-Campos. 2000. Biodiversidad de los ácaros en México, Fondo para la biodiversidad. México D.F. 230pp.

Hortelano-Moncada Y., F.A. Cervantes y A. Trejo-Ortíz. 2009. Mamíferos silvestres de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel en Ciudad Universitaria. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. Revista Mexicana de Biodiversidad. 80(2): 507-520.

Huelsenbeck J.P. y B. Rannala. 2004. Frequentist properties of Bayesian posterior probabilities of phylogenetic tree under simple and complex substitution models. Systematic Biology. 53(6): 901-913.

Huelsenbeck J.P. y F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. Bioinformatics 17:754-755.

Ibarra-ManríquezG., M. Martínez-Ramos, R. Dirzo y J. Núñez-Farfán. 1997. La Vegetación. En: Historia Natural de los Tuxtlas (E. Gónzalez-Soriano, R. Dirzo y R.C. Vogt, Eds.). Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. Pp. 61-85.

IBUNAM portal web, Estación de Biología tropical Los Tuxtlas. Disponible de: <u>http://www.ibiologia.unam.mx/tuxtlas/frame/frame.htm</u>. (Accesado en noviembre, 2013).

Jacot A.P. 1925. Phylogeny in the Oribatoidea. The American Naturalist. 59(662): 272-279.

Ji Y., D. Zhang, L. He. 2003. Evolutionary conservation and versatility of a new setof primers for amplifying the ribosomal internal transcribed spacer regions ininsects and other invertebrates. Molecular Ecology Notes 3: 581–585.

Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. Nucleic Acids Res 30: 3059–3066, doi:10.1093/nar/gkf436

Katoh K. y H. Toh. 2008. Recent developments in the MAFFT multiple sequence alignment program. Brief Bioinf 9: 286–298, doi:10.1093/bib/bbn013

Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. Journal of Molecular Evolution. 16(2): 111-120.

Krantz G.W. y D.E. Walter. 2009.A manual of Acarology. Texas Tech University Press.U.S.A.Texas.807 pp.

Lee D.C. 1991. A modified classification of the oripodoidea (Acarida: Cryptostigmata) based on a preliminary phylogenetic model. In: Modern Acarology (eds. F Dusbábek & V Bukva) Academia, Prague & SPB Publishing, The Hague. (2): 223-228.

Lee K.H., H.S. Yu, S.K. Park, S.J. Lee, K.A. Lee, S.M. Kim, M.S. Ock y H.J. Jeong. 2006. Phylogeny of mite taxa (Acari: Sarcoptiformes) based on small subunit ribosomal RNA sequences. Journal of Life Science. 16: 71–75.

Librado P. y J. Rozas. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. Bioinformatics. 19: 2496-2497.

Maddison W.P. y D.R. Maddison. 2011. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Versión 3.01. http://mesquiteproject.org.

Mahunka S. 1983. Oribatids from the eastern part of the Ethiopian Region (Acari), IV. Annales Hitorico-Naturales Musei Nationalis Hungarici. 75: 327-338.

Maraun M., M. Heethoff, K. Schneider, S. Scheu, G. Weigmann, J. Cianciolo, R. Thomas y R.A. Norton. 2004. Molecular phylogeny of oribatid mites (Oribatida: Acari): evidence for multiple radiations of parthenogenetic lineages. Experimental and Applied Acarology. 33: 183-201.

Maraun M., G. Erdmann, G. Schulz, R.A. Norton, S. Scheu y K. Domes. 2009. Multiple convergent evolution of arboreal life in oribatid mites indicates the primacy of ecology. Proceedings of the Royal Society B. 276 : 3219-3227.

Martín-Del Pozzo. 1997. Geología. En: Historia Natural de los Tuxtlas (E. Gónzalez-Soriano, R. Dirzo y R.C. Vogt, Eds.). Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. Pp. 25-31.

Martínez-Gallardo R. y V. Sánchez-Cordero.1997. Historia natural de algunas especies de mamíferos terrestres. En: Historia Natural de los Tuxtlas (E. Gónzalez-Soriano, R. Dirzo y R.C. Vogt, Eds.). Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. Pp. 592-609.

Mayden R.L. 1997. A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. En: Species, the units of biodiversity. The Systematics Association Special Volume Series. (M.F. Claridge, H.A. Dawah y M.R. Wilson eds.). London, Pp.381-424.

Navajas M. J. Lagnel, J. Gutierrez y P. Boursot. 1998. Species wide homogeneity of nuclear ribosomal ITS2 sequences in the spider mite *Tetranychus urticae* contrast with extensive mitochondrial COI polymorphism. Heredity. 80:742-752.

Norton R.A. y G. Alberti. 1997. Evolutionary and ecological aspects. In: Porose integumental organs of oribatid mites (Acari, Oribatida). (G. Alberti y R.A. Nortoneds.). Stuttgart: Schuweizerbart. Zoologica. Pp. 115-143.

Ojeda C.M. 1989. Aspectos ecológicos de los oribátidos (Acárida: Oribatei) del Edo. de México. (Su relación con los Céstodos Anoplocephalidae). Tesis doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM, México, D.F. 86 pp.

Palacios-Vargas J.G. y R. Iglesias. 2004. Oribatei (Acarida: Cryptostigmata). En: J. Llorente Bousquets y J. J. Morrone, Eds. Biodiversidad, Taxonomía y Biogeografía de Artrópodos de México: Hacia una síntesis de su conocimiento. Universidad Autónoma de México. 4(16): 431- 468 pp.

Palacios-Vargas J.G., Y. Bu, J.G. Jiang, M.B. Potapov y Y. Gao. 2013. Genetic and morphologic variance of litoral springtail *Yuukianura* (Collembola: Neanuridae) from Asian Pacific Coast. (En preparación)

Pérez T.M., C. Guzmán-Cornejo, G. Montiel-Parra, R. Paredes-León y G. Rivas. 2014. Biodiversidad de ácaros en México. Revista Mexicana de Biodiversidad. 85(Supl.1): 399-407.

Pérez-Iñigo C. 1993. Fauna Ibérica, (Acari: Oribatei, Poronota). Museo Nacional de Ciencias Naturales. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid España. 3: 320.

Pérez-Iñigo C. y D. Baggio. 1980. Oribátidos edáficos do Brasil. I. Boletim de Zoologia da Universidade de Sao Paulo (troisieme partie). Acarologia. 32(1): 79-92.

Pérez-Iñigo C. y D. Baggio. 1986. Oribates édaphiques du Brésil (VI). Oribates de l'État de Sao Paulo (troisieme partie). Acarologia. 27(2): 163-179.

Posada D. y K.A. Crandall. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. Bioinformatics. 14(9): 817-818. doi:10.1093/bioinformatics/14.9.817.

Ríos G. y J.G. Palacios-Vargas. 1998. Especies nuevas de *Scapheremaeus* (Acari: Oribatei: Cymbaeremaeidae) de México. Anales del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. Serie Zoológica. 69(2): 181-215.

Ríos-Casanova L. y Z. Cano-Santana. 1994. Análisis cuantitativo de los artrópodos epífitos del Pedregal de San Ángel. En: Rojo, A. (comp.). Reserva Ecológica "El Pedregal" de San Angel: Ecología, Historia Natural y Manejo. UNAM, México. 275-281 pp.

Rojo C.A. 1994. Reserva Ecológica "El Pedregal" de San Ángel: Ecología, Historia Natural y Manejo. A. Rojo (Ed.). Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 410 pp.

Rojo C.A. y J. Rodríguez. 2002. La flora del Pedregal de San Ángel. México: Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT, 95pp.

Ronquist F. and J. P. Huelsenbeck. 2003. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics 19:1572-1574.

Rozas J. y R. Rozas.1995. DnaSP, DNA sequence polymorphism: an interactive program for estimating population genetics parameters from DNA sequence data. Computer Applications in he Biosciences. 11: 621-625.

Rzedowski J. 1954. Vegetación del Pedregal de San Ángel (Distrito Federal, México). Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. 8(1-2): 59-129

Salomone N., F. Frati y F. Bernini. 1996. Investigation on the taxonomic status of *Stegnacarus magnus* and *Stegnacarus anomalus* (Acari: Oribatida) using mitochondrial DNA sequences. Experimental and Applied Acarology. 20:607-615.

Salomone N., B.C. Emerson, G.M. Hewitt y F. Bernini. 2002. Phylogenetic relationships among the Canary Islands Stegnacaridae (Acari: Oribatida) inferred from mitochondrial DNA sequences data. Molecular Ecology. 11:79-89.

Salomone N. y F. Bernini.2004. Oribatid mites and island biota: a molecular phylogenetic approach. Phytophaga. 14: 501-512.

Sarkar I.N., P.J. Planet y R. DeSalle. 2008. CAOS software for use in character-based DNA barcoding. Molecular Ecology Resources. 8: 1256-1259.

Schäffer S., S. Koblmüller, T. Pfingstl, C. Sturmbauer y G. Krisper. 2010. Ancestral state reconstruction reveals multiple independent evolution of diagnostic morphological characters in the "Higher Oribatida" (Acari), conflicting with current classification schemes. BMC Evolutionary Biology. 10: 246-263.

Siebe C. 2009. La erupción del volcán Xitle y las lavas del pedregal hace 1670 +/- 35 años AP y sus implicaciones. En: Lot, A. y Z. Cano-Santana (Eds.) Biodiversidad del ecosistema del pedregal de San Ángel. Universidad Nacional Autónoma de México. Pp 43-49.

Silvestro D, Michalak I. 2012. raxmlGUI: a graphical front end for RAxML. Organism Diversity and Evolution. 12:335–337, doi:10.1007/s13127-011-0056-0

Soto M y L. Gama. 1997. Climas. En: Historia Natural de los Tuxtlas (E. Gónzalez-Soriano, R. Dirzo y R.C. Vogt, Eds.). Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. Pp. 7-23. Stamatakis E. 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihoodbased phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. Bioinformatics. 22:2688–2690, doi:10. 1093/bioinformatics/btl446

Subías L.S. 2014. Listado sistemático, sinonímico y biogegráfico de los ácaros oribátidos (Acariformes: Oribatida) del mundo (Excepto fósiles). Disponible de: <u>http://www.ucm.es/info/zoo/Artropodos/Catalogo.pdf</u>. (Accesado en Enero 2015). Firts versión published in Graellsia (2004), 60 (Número extraordinario). 3-305.

Swofford D. L. 2003.PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Valenzuela V.H., T. Herrera y E. Pérez-Silva. 2004. Contribución al conocimiento de los macromicetos de la "Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel" D.F. México. Revista Mexicana de Micología. 18: 61-68.

Villagomez F. y J.G. Palacios-Vargas. 2013. A new species of *Trichogalumna* (Acari: Oribatida: Galumnidae) from México. BRENESIA. 79: 72-80.

Villagomez F. y J.G. Palacios-Vargas. 2013. A new species of *Pilogalumna* (Acari: Oribatida: Galumnidae) from México. Revista Mexicana de Biodiversidad. En prensa.

Yang Z. y B. Rannala. 2010. Bayesian species delimitation using multilocus sequence data. Proceedings of the National Academy of Sciencies. 107(2): 9264-9269.

Yang Z. y B. Rannala.2012. Molecular phylogenetics: principles and practice. Nature Reviews Genetics. 13(5): 303-314.

Young R.M., V.M. Behan-Pelletier, P.D.N. Hebert. 2012. Revealing the hyperdiverse mite fauna of Subartic Canada through DNA Barcoding. PLoS ONE. 7(11): e48755. doi:10.1371/journal.pone.0048755.

Zhang J., P. Kapli, P. Davlidis y A. Stamatakis. 2013. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. Bioinformatics. 29(22): 2868-2876.

Apéndice 1

MasterpureTM Complete DNA and RNA Purification Kit. EpicentreTM

- Trasladar un solo ejemplar a un tubo de 1.5 ml y agregar 35 microlitros de Solución de digestión 1 (para tejidos), macerar el ejemplar con ayuda de una aguja.
- Añadir 1 microlitro de proteinasa K y 265 microlitros de solución de digestión para tener un volumen final de 300 microlitros.
- Incubar en baño seco a 60°C durante 30 minutos, con vortexeos cada cinco minutos (6 veces).
- Trasladar a otra incubadora de baño seco fijada previamente a una temperatura de 37°C por 5 minutos, una vez culminado trasladar a hielo.
- Agregar 1 microlitro de RNAasa A a cada muestra e incubar a 37°C por 30 minutos, una vez culminado trasladar a hielo.
- Adicionar 150 microlitros de MPC por muestra, vortexear por 10 segundos y centrifugar a 13,200 rpm por 15 minutos.
- En este último paso es posible observar un pequeño pellet en el fondo. Transferir el sobrenadante con micropipeta a un nuevo tubo de 1.5 ml y agregar 500 microlitros de isopropanol.
- Mezclar invirtiendo el tubo de 30 a 40 veces y centrifugar a 13,200 rpm durante 15 minutos.
- El pellet resultante posee el material genético, por tanto es necesario pipetear el sobrenadante y desecharlo, teniendo cuidado de dejar una pequeña porción para no secar el pellet.
- Realizar dos lavados adicionales con etanol al 70% y dejar secar el pellet con el tubo abierto por unas 3-4 horas, finalmente resuspender el pellet en 34 microlitros de TE y almacenar a -20°C.

Rapid Animal Genomic DNA Isolation Kit. BiobasicTM

- Trasladar un solo ejemplar a un tubo de 1.5 ml y agregar 400 microlitros de buffer de digestión, macerar el ejemplar con ayuda de una aguja e incubar en baño seco a 65°C durante una hora.
- Agregar 200 microlitros de buffer PA, mezclar inviriendo el tubo 20-30 veces. Incubar a -20°C por cinco minutos.
- Centrifugar a 12 000 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente. Transferir el sobrenadante a un nuevo tubo de 1.5 ml.
- Agregar 400 microlitros de isopropanol, mezclar invirtiendo el tubo 5 veces e incubar aa temperatura ambiente por 5 minutos.
- Centrifugar a 12 000 rpm por 5 minutos y descartar el sobrenadante cuidadosamente.
- Adicionar 1 ml de etanol al 75% pre congelado al tubo, mezclar invirtiendo el tubo 10 veces y centrifugar a 12 000 rpm por 1 minuto. Descartar el sobrenadante.
- Repetir nuevamente el paso anterior.
- Dejar secar el pellet a temperatura ambiente con la tapa abierta por 5 minutos.
- Agregar 50 microlitros de buffer TE para disolver el pellet de DNA. Mantener a 4°C por un par de horas hasta haber disuelto completamente el pellet.
- Almacenar a -20°C.

Chelex 100TM.

- Trasladar un ejemplar a un tubo de 1.5 ml macerar en seco
- En otro tubo de 1.5 ml agregar 1 ml de agua y adicionar resina ChelexTM hasta la mitad, agregar 12 microlitros de PK (Biobasic).
- Agregar 50 microlitros de la mezcla a cada muestra (vortexear cada ocasión), incubar a 56°C hora y media.
- Una vez terminado trasladar a otro baño seco a 96°C por 15 minutos. La resina se precipitará y el sobrenedante contendrá el DNA genómico.
- Tratando de no pipetear resina, tomar el DNA disuelto del sobrenadante ya que las partículas pueden inhibir la polimerasa.
